

19-я Международная пушинская школа-конференция молодых ученых



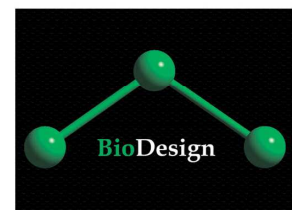
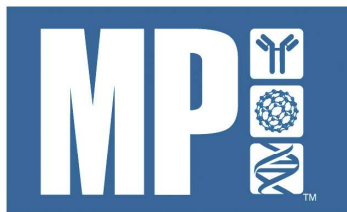
Биология

Наука XXI века

Сборник тезисов



Пушино, 2015



Федеральное государственное бюджетное учреждение
Пушинский научный центр Российской академии наук

Межфакультетский научно-образовательный центр
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в г.Пушино



**19-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

The 19th INTERNATIONAL PUSHCHINO SCHOOL CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS
“BIOLOGY – THE SCIENCE OF THE XXI CENTURY”

Пушино, 2015

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

БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 19-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, 20 - 24 апреля 2015 г.). Сборник тезисов. Пушино, 2015.

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

Работа школы-конференции проводится в следующих секциях:

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

В программу школы-конференции, кроме устных и стендовых докладов участников, входят лекции ведущих российских и зарубежных ученых, круглые столы, мастер-классы, тренинги, экскурсии по институтам Пушинского научного центра, научные и творческие конкурсы, насыщенная культурная и спортивная программа.

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ»

THE OPTIMAL RATIO OF CARBON DIOXIDE AND NITROGEN FOR ALGAE CULTIVATION IN CLOSED PHOTOBIOREACTORS

Karyakin D.O., Kulabukhov V.Yu.

University of Mechanical Engineering, Moscow, Russia

dime.angeler@gmail.com

Coal incineration is always accompanied by carbon dioxide liberation. A significant decrease of its use in industrial purposes in the near future is not possible, the problem of excessive CO₂ concentration and reducing its level in the atmosphere is attracting more attention. For the experiment a closed cultivation system (photobioreactor) was chosen. They have a few technical advantages, are less dependent on environmental parameters. There are several classifications of photobioreactors, for example: tubular, flat panel, column and others. An algae photobioreactor is an effective system for converting carbon dioxide into biomass. The application of algal photobioreactors as absorbing devices is a practical solution of the problem of carbon dioxide emissions, also permitting to cultivate algae biomass. To get the necessary biomass productivity, optimal cultivation conditions should be known. One of them is the presence of carbon dioxide in the layer contacting with the biomass. The purpose of this experiment was to find the optimal carbon dioxide concentration as a proportion amount of carbon dioxide in the gas mixture N₂-CO₂ for photobioreactor operation.

During this work the investigation of how different CO₂ concentrations effect on the cultivation of microalgae was carried. Gas mixing was made in the required volume, carbon dioxide (substrate) was mixed with nitrogen (inert gas). Then the gas was pumped directly into the culture from the intermediate container. All these operations were made through a meter which tracked the gas flow according to preliminary calculations. By controlling the optical algae suspension density the productivity of conditions was determined by the incremental value of biomass. The cultivation has been done in small-size laboratory bioreactors in Tamiya medium.

СЕЛЕКЦИЯ IN VITRO КУЛЬТУРНЫХ СОРТОВ ГОРОХА И ТРИТИКАЛЕ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Абдрашева К.К., Тагиманова Д.С., Хапилина О.Н., Купешев Ж.С.

РГП «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан

kimbat_0504z@mail.ru

Возделывание гороха и тритикале в регионах Казахстана связано с рядом трудностей – отсутствием семеноводческой базы, а также высокой потерей урожая, которые могут достигать более 30-50%. Одновременное использование биотехнологии и традиционных методов селекции позволяет добиться значительных успехов в получении нового селекционного материала.

Объектами исследований являлись районированные сорта и линии гороха и яровой тритикале различного географического происхождения, которые были использованы в селекции *in vitro* на устойчивость к хлориду натрия и PEG-6000.

Для индукции каллусогенеза были использованы семядольные листья и междоузлия 5-7-дневных стерильных проростков гороха, и зрелые зародыши тритикале, которые в асептических условиях помещали на индукционные среды Мурасиге и Скуга, Гамборга В5, содержащие 50 μМ БАП, и 0,01 μМ ИУК. Селективные агенты добавляли в питательные среды на каждом этапе скрининга в количестве 10-20% к объему среды.

Сравнительный анализ данных по селекции тритикале *in vitro* с проведением визуального анализа каллусов показал, что независимо от генотипических особенностей происходит существенное снижение частоты образования клеточных линий в культуре зрелых зародышей тритикале на всех вариантах селективных сред, определенные в процессе культивирования концентрации селективных агентов. Схемы клеточной селекции, включающие получение каллусов тритикале на среде МС и дальнейшее их пассирование на селективные среды, были менее эффективны по выходу растений-регенерантов.

Для гороха более эффективными были схемы клеточной селекции с добавлением селективных агентов в среду для индукции морфогенеза: на этом этапе наблюдали значительное снижение количества выживших каллусов, а также уменьшение прироста биомассы. Наибольшее влияние селективные агенты оказывали на массу каллусных тканей, по сравнению с каллусообразующей способностью. Селективные агенты в различной степени оказывали влияние на прирост биомассы: на средах с полиэтиленгликолем прирост составлял 14,0-39,1% в зависимости от генотипа, в то время как на средах с хлоридом натрия прирост варьировал в интервале 7,2-55,0%.

Для обеих культур регенерационный потенциал и количество сформировавшихся регенерантных побегов было наименьшим на схемах селекции на устойчивость к хлориду натрия, в сравнении с вариантами селекции на засухоустойчивость.

СЕЛЕКЦИЯ ПРИРОДНЫХ И МУТАНТНЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ИЗОЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

Аллаяров Р.К., Камзолова С.В., Лунина Ю.Н., Моргунов И.Г.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

ramil_allayarov@rambler.ru

В настоящее время рассматриваются перспективы получения изолимонной кислоты (ИЛК), которая при достаточных масштабах производства может найти широкое применение как реактив в биохимических исследованиях, пищевом производстве, медицине, сельском хозяйстве, как маркер аутентичности. В ИБФМ РАН совместно с ФМБА России получены предварительные данные, что ИЛК обладает энергостимулирующим и антигипоксическим действием и может быть использована в качестве актопротектора при длительных интенсивных физических нагрузках у спортсменов.

ИЛК существует в виде четырех изомеров: эритро-Ds-, эритро-Ls-, трео-Ls- и трео-Ds-. Из четырех изомеров только трео-Ds-изолимонная кислота является природным соединением, обладающим физиологической активностью. Именно этот изомер представляет практический интерес, так как остальные три изомера не метаболизируются клетками и даже ингибируют ряд ферментных систем.

Целью настоящей работы являлась селекция природных и мутантных штаммов дрожжей – продуцентов ИЛК для разработки микробиологического процесса получения ИЛК.

В ходе выполнения работы из 77 природных штаммов дрожжей различной таксономической принадлежности в качестве наиболее активных продуцентов были селекционированы штаммы *Yarrowia lipolytica* 212, *Y. lipolytica* 607, *Y. lipolytica* 672 и *Y. lipolytica* 704. По результатам испытаний среди природных продуцентов отобран штамм *Y. lipolytica* 607 с низким содержанием побочного продукта ферментации – лимонной кислоты (ЛК), соотношение ИЛК:ЛК составляло 1:0,18. Далее на основе природных продуцентов *Y. lipolytica* в результате УФ-облучения и НГ-мутагенеза, а также их комбинированного воздействия было получено 6950 мутантных колоний, среди которых 50 вариантов характеризовались различными нарушениями в ЦТК и не росли на среде с ацетатом. Отобранные варианты культивировали в условиях дефицита азота на жидкой среде Ридер, содержащей рапсовое масло. Через 6 суток определяли содержание ИЛК и ЛК. Из 50 колоний только 4 варианта (2 – УФ-облучение, 1 – обработка НГ и 1 – УФ/НГ) обладали способностью к преимущественному синтезу ИЛК по сравнению с исходными природными штаммами *Y. lipolytica*. Наибольшее накопление ИЛК и лучшее соотношение ИЛК:ЛК отмечены у мутанта *Y. lipolytica* УФ/НГ, который был получен при комбинированном воздействии УФ-лучей (4 мин) и НГ (50 мкг/мл) и характеризовался ослабленным ростом на ацетате.

Отобранные штаммы являются перспективными продуцентами и могут быть использованы для препаративного получения ИЛК.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (договор №3603ГУ1/2014 от 26.09.2014), а также при финансовой поддержке РФФИ и Московской области в рамках научного проекта №14-48-035540 «р_центр_а».

КОЛЛАГЕН РЫБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СВОЙСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЕ В КОСМЕТОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Антипова Л.В., Болгова С.Б.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет инженерных технологий,
Воронеж, Россия

Ruteneya@yandex.ru

Коллаген – фибриллярный белок, составляющий основу соединительной ткани организма (сухожилия, кости, хрящ, дерма и т.п.) и обеспечивающий её биологические функции. Многообразие этих функций издавна привлекает исследователей и практиков в разработке биообъектов для решения проблем здоровья человека и животных, так как с возрастом и вследствие травм и различных заболеваний требуется коррекция коллагенового фона в тканях. Опыт связан в основном с коллагеновыми препаратами разнообразных форм и направленности действия из тканей животных. Коллагены рыбного происхождения стали известны относительно недавно.

В настоящей работе приведены экспериментальные данные по выделению и изучению свойств рыбных коллагенов из объектов внутренних водоемов Центрально-Черноземного региона (ЦЧР). Результаты экспериментальных исследований позволили констатировать особенности физико-химических свойств коллагенов рыбного происхождения: более низкая молекулярная масса, фракционный и аминокислотный состав коллагеновых фракций, способность к растворению. Коллагеновые субстанции обладают выраженной гидрофильностью, ранозаживлением и безопасны для человека. Данные обстоятельства позволяют прогнозировать перспективы применения:

В косметологии коллаген используется для наружных аппликаций в составе рецептур разнообразных кремов, масок, бальзамов. Эффективность таких косметических средств объясняется тем, что гигроскопическая коллагеновая пленка действует наподобие влажного компресса. При этом снижается трансэпидермальная потеря воды кожей. Благодаря гигроскопическим свойствам коллагена повышается влажность рогового слоя кожи, что дает основания считать новые косметические средства надежным защитным и антивозрастным средством. Возможно, предположить положительные результаты получения филеров (заполнителей), для инъекционной контурной пластики, а также в виде одного из компонентов в коктейлях с гиалуроновой кислотой и другими веществами в процедурах мезотерапии, а также в биодобавках и порошках, капсулах с гидролизатом коллагена, таблеток.

Природный коллаген гидробионтов, сочетающий только положительные качества синтетических полимеров и тканевых трансплантатов является весьма перспективным в поиске альтернативы искусственным медицинским материалам.

Получение коллагеновых дисперсий из рыб расширяет возможности применения коллагена в различных областях медицины. В лабораторных условиях получены опытные образцы коллагеновых пленок, губок, нитей, трубок и др., которые положительно оцениваются при лечении ран и ожогов.

СЛОЖНОСТИ АМПЛИФИКАЦИИ GC БОГАТЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, КОДИРУЮЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

Афошин А.С.^{1,2}, Кочетков Ф.В.^{1,2}, Шадрин А.М.², Леонтьевский А.А.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт;

²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

alex080686@mail.ru

Ферменты являются универсальными биологическими катализаторами, нашедшими свое применение во многих областях биотехнологии – пищевой, текстильной, целлюлозно-бумажной, химической и фармацевтической промышленности, медицины и сельском

хозяйстве. Отличительная особенность ферментов как катализаторов – это специфичность и эффективность действия.

Целью данного проекта является разработка и создание штаммов-продуцентов препаратов рекомбинантных бактериальных ферментов. На данном этапе решалась задача разработать эффективный «high throughput» подход для амплификации генов, продукты которых потенциально могут найти применение в биотехнологии. В качестве источников генетического материала, кодирующих ферменты, были выбраны штаммы представителей порядка *Actinomycetales*, которые известны способностью метаболизировать труднодоступные субстраты, такие как хитин, целлюлоза, нефтепродукты и т.д.:

Nocardiosis synnemataformans (ВКМ Ас-2518);

Streptomyces avermitilis (ВКМ Ас-1301);

Saccharopolyspora erythraea (ВКМ Ас-1189);

Saccharopolyspora rectivirgula (ВКМ Ас-810);

Thermomonospora curvata (ВКМ Ас-1241);

Saccharothrix espanaensis (ВКМ Ас-1969);

Nocardiosis alba (ВКМ Ас-1883).

А также один штамм из порядка *Thermales*:

Meiothermus ruber (ВКМ В-1258).

Особенностью штаммов бактерий порядка *Actinomycetales* является высокое содержание GC пар в ДНК, что вызывает затруднения при проведении ПЦР. С целью решения данной проблемы на GC богатых матрицах был выполнен скрининг коммерчески доступных ДНК-зависимых ДНК-полимераз и оптимизированы условия ПЦР. Выбранные оптимальные условия были использованы для амплификации свыше 185 целевых генов. Для 87% реакций получены специфические продукты. В данной работе мы представляем зависимости успешности получения специфических продуктов от содержания GC-пар в продукте ПЦР, штамма микроорганизма и длины продукта ПЦР.

ДОСТАВКА НАНОЧАСТИЦ В *CAENORHABDITIS ELEGANS* ПРИ ПОМОЩИ НАНОМОДИФИЦИРОВАННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Ахатова Ф.С., Фахруллина Г.И., Фахруллин Р.Ф.

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

Farida125@mail.ru

В настоящее время существует потребность в разработке нового метода эффективной визуализации наноматериалов в различных живых модельных объектах. Визуализация частиц при помощи обычного светового микроскопа практически невозможна, а методы электронной микроскопии биологических образцов требуют многоэтапной пробоподготовки и дорогостоящих реактивов. Так же минусом метода электронной микроскопии является тот факт, что визуализировать можно только зафиксированные образцы. Одним из перспективных подходов к детекции наноразмерных материалов в образцах с живыми клетками и с микроскопическими организмами - это использование гиперспектральных изображений с высоким разрешением полученных при помощи темнопольной микроскопии.

Целью нашей работы явилась разработка простого и достоверного способа детекции наноматериалов при помощи гиперспектрального анализа с использованием бактерии *Escherichia coli* и свободноживущей почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*.

Впервые мы использовали наномодифицированные «клетки-киборги» как универсальный подход для контролируемой доставки наночастиц в пищеварительный тракт нематод *Caenorhabditis elegans* [PMID: 24121899]. Наш подход основан на осаждении наночастиц на клеточной стенке микроорганизмов с помощью прямого покрытия поверхностей поликатионами [PMID: 20022481] или через послойную сборку на поверхности клетки, чередуя полиэлектролиты с наночастицами [PMID: 19795108].

Нематоды питаются наномодифицированными бактериями, глотая их, что приводит к равномерному распределению наночастиц внутри всего желудочно-кишечного тракта. А с помощью прозрачного тела нематод можно легко визуализировать наноматериалы.

С помощью темнопольного гиперспектрального микроскопа мы визуализировали наночастицы в пищеварительной системе нематод, начиная с глотки и заканчивая анусом. Кроме того, мы применяли данный вид микроскопии для выявления магнитных, золотых и серебряных наночастиц. Также гиперспектральные изображения можно применять для визуализации наноматериалов в исследованиях по нанотоксикологии. В будущем эта методика позволит отслеживать наночастицы, которые были использованы в качестве компонентов в лекарственных средствах в человеческих и животных клетках.

Данное исследование было поддержано грантом Российского Научного Фонда № 14-14-00924.

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОСИНЫ (*POPULUS TREMULA L.*) С ИЗМЕНЕННЫМ УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА 4-КУМАРАТ-КОА-ЛИГАЗЫ К ФИТОПАТОГЕННЫМ БАКТЕРИЯМ

**Барина Е.Д.¹, Виноградова С.В.¹, Камионская А.М.¹, Ковалицкая Ю.А.²,
Шестибратов К.А.²**

¹ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва; ²Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru

Лигнин – сложный природный полимер, обеспечивающий механические свойства стеблей растений, снижающий проницаемость клеточных стенок для воды и питательных веществ. Растения с пониженным содержанием лигнина и хорошими ростовыми показателями могли бы служить сырьем для производства биотоплива и для целлюлозно-бумажной промышленности.

Изменения в содержании и составе лигнина могут привести к изменениям фенотипа растения и его устойчивости к биотическим факторам. Поэтому целью данной работы было изучить устойчивость к фитопатогенным бактериям у трансгенных растений осины с пониженным содержанием лигнина.

Были получены трансгенные растения осины (*Populus tremula L.*) с пониженной экспрессией гена 4-кумарат-КоА-лигазы (4CL), одного из ключевых ферментов биосинтеза лигнина в растении, и протестированы на устойчивость к распространенным фитопатогенным бактериям родов *Xanthomonas*, *Erwinia* и *Dickeya*. Листья контрольных и трансгенных растений, адаптированных к условиям защищенного грунта, в возрасте 2-3 месяцев инокулировали бактериальной суспензией с оптической плотностью 0,4 методом клип-инокуляции и прямого укола листьев. Проявление реакции сверхчувствительности и развитие симптомов наблюдали на 2, 3, 5 и 7 день после инокуляции.

В ходе работы было установлено, что все трансгенные и нетрансгенные растения осины устойчивы к штаммам *Xanthomonas arboricola*. Была обнаружена зависимость между активностью фермента 4CL, приводящему к снижению содержания лигнина у трансформированных образцов, и устойчивостью к бактериям *Erwinia amylovora* штаммов 497, 496, 109, 31 и *Dickeya solani* штамма D12. При этом трансформированные растения, обладающие сниженной активностью фермента 4CL, показали большую устойчивость к *Dickeya solani* по сравнению с нетрансгенными растениями. Таким образом, снижение содержания лигнина в древесине трансгенных растений с пониженной экспрессией гена 4CL, не приводило к снижению устойчивости к фитопатогенным бактериям *X. arboricola*, *E. amylovora* и *D. solani*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№14-08-3166714).

БИОДЕГРАДАЦИЯ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ И АРОМАТИЧЕСКИХ НИТРОСОЕДИНЕНИЙ В СТОЧНЫХ ВОДАХ

**Бобров Е.С.¹, Горшина Е.С.¹, Неманова Е.О.¹, Русинова Т.В.¹, Стехновская Л.Д.¹,
Бирюков В.В.¹, Ватутин Н.М.², Емельянов И.А.²**

¹ФГБОУ ВПО Московский государственный машиностроительный университет,
Москва; ²ФКП «НИИ «Геодезия», Красноармейск, Россия

rain@scientist.com

Особое место среди актуальных задач современной биотехнологии занимает охрана окружающей среды с применением различных технологий, направленных на очистку сточных вод от разного рода соединений, обладающих низкой биодоступностью, в частности ароматических (TNT) и гетероциклических (RDX, HMX) нитросоединений. Необходимым условием разработки технологии биодegradации данных веществ является выбор эффективных штаммов-деструкторов и определение факторов, влияющих на процесс биодegradации.

В работе использовали более 60 коллекционных штаммов микроорганизмов, относящихся к различным родам, для которых известна способность к биодegradации гетероциклических и ароматических нитросоединений, а также 15 микробных ассоциаций, выделенных из проб, взятых из мест возможной естественной селекции микроорганизмов-деструкторов.

Выбор деструкторов и определение факторов, влияющих на процесс биодegradации, осуществляли по эффективности процесса дegradации, которую оценивали по изменению концентрации RDX и TNT в процессе биодegradации, определяемому в смеси ацетонитрил:вода (4:6) с использованием ВЭЖХ-хроматографа «Стайер» («Аквилон») с колонкой с обращенной фазой C₁₈ со спектрофотометрическим детектором при длине волны $\lambda = 235$ нм.

В результате исследований отобраны 29 штаммов микроорганизмов, показавших способность к деструкции RDX, в том числе грибные и бактериальные культуры родов *Acremonium*, *Aspergillus*, *Burkholderia*, *Cladosporium*, *Flavobacterium*, *Gordonia*, *Irpex*, *Phanerochaete*, *Phlebia*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Trichoderma*, а также четыре микробные ассоциации. В отношении TNT изученные деструкторы показали низкую способность к дegradации, что может быть обусловлено высокой токсичностью этого соединения. Исключение составляет одна из микробных ассоциаций, которая является также наиболее эффективным деструктором RDX (эффективность биодegradации TNT – 94%, RDX – 100%).

Показано, что основную роль в первичной биодegradации нитросоединений найденной высокоэффективной ассоциацией играет штамм вида *Rhodococcus erythropolis*.

Выявлено, что наиболее эффективно процесс биодegradации RDX и TNT выделенной ассоциацией идет в условиях жидкофазного глубинного культивирования в диапазоне значений температуры 24-26°C, в режиме рН-статирования 7.5, перемешивании 600 об·мин⁻¹ и уровне аэрации 0,6 л·л⁻¹·мин⁻¹.

Таким образом, в результате исследований получены исходные данные для разработки технологии биодegradации гетероциклических и ароматических нитросоединений в сточных водах.

ЛАЗЕРНЫЙ ДОПЛЕРОВСКИЙ АНЕМОМЕТР ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ СКОРОСТИ КРОВОТОКА IN VIVO

Бороздова М.А.¹, Федосов И.В.¹, Тучин В.В.^{1,2,3}

¹ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,

²ФГБУН Институт проблем точной механики и управления РАН, Саратов;

³ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

mariabor@mail.ru

В отличие от большинства современных оптических методов исследования микроциркуляции, ориентированных на визуализацию сети кровеносных сосудов и оценку относительных изменений объема циркулирующей крови, лазерные доплеровские анемометры (ЛДА) и доплеровские оптические когерентные томографы (ДОКТ) позволяют измерять

скорость течения крови и точно оценивать объемный расход крови через отдельные артериолы и венулы. Подобные измерения необходимы для понимания фундаментальных механизмов регуляции местного кровотока в органах и тканях и, следовательно, могут быть непосредственно использованы для целей медицинской диагностики.

Принцип действия ЛДА и ДОКТ основан на измерении величины доплеровского сдвига частоты (ДСЧ) оптического излучения, однократно рассеянного движущимися клетками. Величина ДСЧ прямо пропорциональна проекции вектора скорости на направление вектора рассеяния света, который определяется как разность волновых векторов падающего и рассеянного излучения. Абсолютная величина скорости течения может быть определена, если известен угол между вектором скорости и вектором рассеяния. ЛДА и ДОКТ применяют в основном для исследования сосудов, расположенных на небольшой глубине параллельно поверхности сильно рассеивающих свет тканей.

Мы предлагаем метод определения величины ДСЧ, основанный на вычислении разностного спектра мощности сигнала ЛДА. Метод был реализован на разработанном нами ЛДА с оптическим модулятором, осуществляющим переключение режимов освещения измерительного объема и позволяющим удалять низкочастотную компоненту из спектра автоматически. Результаты экспериментов, выполненные с использованием фантомов кровеносных сосудов и на биологических объектах, демонстрируют преимущества ЛДА на основе дифференциальной схемы (дифЛДА) перед существующими оптическими методами измерения скорости кровотока в сравнительно крупных кровеносных сосудах диаметром 50–500 мкм. Было показано, что дифЛДА обеспечивает высокое отношение сигнал/шум при измерении скорости течения сильно рассеивающих жидкостей с высоким коэффициентом экстинкции, таких как кровь в артериолах и венулах животных или человека.

Полученные результаты демонстрируют возможность использования дифЛДА для *in vivo* измерения скорости течения крови.

Работа выполнена в рамках Государственного задания в сфере научно-исследовательской деятельности №2014/203 НИР №1490 «Разработка оптических методов и средств контроля структуры и динамики биологических сред», а также при поддержке Минобрнауки РФ, НИР 3.1340.2014/К конкурсной части Госзадания.

ПЕПТИД, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ УКРОПА ПАХУЧЕГО *ANETHUM GRAVEOLENS* L., КАК СТИМУЛЯТОР РОСТА РАСТЕНИЙ

Бурдина А.В.¹, Куликова О.Г.¹, Ильина А.П.¹, Ямсков И.А.¹, Ямскова В.П.²

¹ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН,

²ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

annie-bur@mail.ru

Растения являются богатым источником разнообразных биологически активных веществ и пептидов, в частности фитогормонов и индукторов защитных реакций. Многие пептиды растений, такие как антимикробные и инсектицидные пептиды, выполняют защитные функции, повышая устойчивость растений к биотическому и абиотическому стрессу. Среди растительных пептидов также выделяют группу фитогормонов, которые являются регуляторами клеточного деления, роста и развития растений. Поиск и исследование новых растительных пептидов является актуальной задачей современной науки. Данное направление исследования называется «пептидомика», в задачи которой входит выделение, идентификация и каталогизация пептидов, присутствующих в тканях и органах.

Целью данной работы являлся поиск в тканях укропа пахучего *Anethum graveolens* L. нового эндогенного пептида и определение его активности.

В настоящей работе для выделения растительного пептида была применена экстракция ткани листьев укропа пахучего, фракционирование полученного экстракта, а также разделение супернатанта методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Полученные в ходе ВЭЖХ фракции были проанализированы методом масс-спектрометрии, в результате чего был выявлен пептид с молекулярной массой 4300±2 Да. Основываясь на предыдущих работах по изучению данного растения, комплекс пептидов, выделенных из тканей растения, проявляет стимулирующий эффект на рост культурных

растений. В связи с этим полученный растительный пептид был исследован на модели проращивания семян укропа пахучего. В ходе эксперимента был показан статистически достоверный эффект стимулирования роста укропа пахучего при воздействии на его семена полученным пептидом.

Таким образом, в настоящей работе из укропа пахучего *Anethum graveolens* L. выделен пептид с молекулярной массой 4300 ± 2 Да, проявляющий выраженный стимулирующий эффект на рост семян укропа пахучего.

КОНСОРЦИУМ МЕТАНОБРАЗУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОГАЗА

Бытяк Д.С., Гуля Н.И., Игнатова А.М., Киданова Е.В.

ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

bytyak.denis@mail.ru

Белгородская область является одним из лидеров по развитию сельского хозяйства. В результате деятельности многочисленных животноводческих и растениеводческих предприятий образуется значительное количество органических отходов (суммарный годовой объем 15 миллионов тонн). На сегодняшний день приоритетным направлением является решение вопроса об экологичной переработке остатков данных производств.

Для решения этой проблемы в нашей области функционирует биогазовая станция «Лучки», способная перерабатывать 73,4 тысячи тонны сырья в год. Но технически – реализуемый выход биогаза составляет не более 50%. Это связано с тем, что существующий консорциум микроорганизмов, используемый на данной биогазовой установке недостаточно подходит под исходное сырье.

Нами предложен консорциум метанобразующих микроорганизмов, при построении теоретической модели которого были учтены специфические особенности структуры и химического состава исходного сырья. Проанализировав различные данные, мы пришли к выводу о том, что микроорганизмам должны соответствовать следующим требованиям:

- Облигатные анаэробы;
- Неспорообразующие;
- Мезотермофильные;
- Значение рН в рамках 6,0-8,0.

Должны использовать продукты метаболизма друг друга для синтеза биогаза.

Существуют несколько этапов получения биогаза, в соответствии с которыми нами были выбраны микроорганизмы, входящие в консорциум:

1. Бактерии, осуществляющие гидролиз субстрата до простых веществ (аминокислоты, глюкоза, жирные кислоты).

2. Кислотообразующие бактерии. Получившиеся простые вещества в первом этапе сбраживаются микроорганизмами до других органических веществ (уксусная кислота) и неорганических веществ (CO_2 , H_2).

В эти две группы можно отнести бактерии рода *Clostridium* (*Clostridium butyricum*); рода *Fibrobacter*, осуществляющего гидролиз целлюлозы с образованием уксусной кислоты.

3. Метанообразующие бактерии. Продукты, полученные в предыдущих этапах (CO_2 и H_2O) являются субстратом для образования метана бактериями рода *Methanogenium*, который подходит под предложенные нами рекомендации. Бактерии рода *Methanococcoides* из полученного субстрата, кроме метана способны образовывать аммиак, который необходим для роста и функционирования бактерий рода *Methanobrevibacter*.

Таким образом, разработанная модель адаптирована под исходных субстрат, что и являлось целью исследования. Для подтверждения и усовершенствования функциональности необходимо проведение практических экспериментов, в результате которых данный консорциум начнет успешно синтезировать биогаз на станции получения альтернативной энергии «Лучки».

АНАЛИЗ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КЛОНОВ ОСИНЫ С РЕКОМБИНАНТНЫМ ГЕНОМ КСИЛОГЛЮКАНАЗЫ *SP-XEG*

Видагина Е.О.^{1,2}, Улько Д.О.^{1,2}, Ковалицкая Ю.А.¹, Шестибратов К.А.¹

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

vidjagina@mail.ru

Ксилоглюканаза, гидролизуя ксилоглюканы, способствует растяжению клеточной стенки, влияя на ростовые и биохимические показатели растения. Нами было получено 25 трансгенных линий растений осины с конститутивной экспрессией рекомбинантной ксилоглюканазы *sp-Xeg* из гриба *Penicillium canescens*.

Проведен анализ биометрических (высота растений, количество междоузлий, эффективность укоренения, масса корневой системы, параметры листовой пластинки) и биохимических показателей (содержание пентозанов, целлюлозы и лигнинов в древесине). На основе результатов исследований выделено четыре наиболее перспективных клона: PtXIVXeg1a, PtXVXeg1a, PtXVXeg1b и PtXIVXeg1c. Указанные клоны превышали контроль по скорости роста в среднем на 24% на первом году вегетирования. Максимальное отличие отмечено у растений клона PtXVXeg1b – на первом году они были выше на 26%, а на втором году на 44%. У всех выделенных клонов показано увеличение эффективности ризогенеза. Эффективность укоренения в условиях *in vitro* в 2 раза выше, чем у контроля, масса корневой системы в защищенном грунте также выше в 1,5 раза. Наблюдаемый эффект подтверждается анализом метаболитов, который показал увеличение содержания туранизы примерно в 80 раз в трансгенных клонах по сравнению с контролем. Тураноза влияет на транспорт ауксинов в корневую систему, способствуя образованию придаточных корней.

Важным показателем ценности древесины является содержание целлюлозы. Наибольшее значение этого показателя у клона PtXIVXeg1c – 426 мг/г, у контроля оно составило 348 мг/г. У других выделенных клонов значения содержания целлюлозы были приближены и равнялись 361 мг/г. Во всех выделенных трансгенных линиях зафиксировано ожидаемое снижение содержания пентозанов. Содержание лигнинов не изменилось.

Электронная микроскопия показала увеличение толщины клеточной стенки в выделенных клонах. Толщина ксилемы первого года трансгенных растений в среднем равнялась 1,78 мкм, контрольных растений 1,28 мкм; толщина ксилемы второго года – 1,98 мкм и 1,77 мкм, соответственно. Анализ либриформа также показал увеличение длины и ширины сосудистого волокна у трансгенных растений в верхней и средней части. Для трансгенных клонов средняя длина волокна равнялась 480 мкм, ширина – 18 мкм, для контрольных растений – 428 мкм и 17 мкм, соответственно.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №14-04-31915 мол_а).

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *ESCHERICHIA COLI* BL21 С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ БЕЗМЕТИОНИНОВОГО ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА – 2 b

**Виноградова А.Ф., Демьянова Е.В., Шалаева О.Н., Горбунова И.Н., Петрова В.Н.,
Ищенко А.М.**

ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

alienv@inbox.ru

При суперэкспрессии рекомбинантного интерферона α -2b (IFN α -2b) в клетках *Escherichia coli* BL21 кроме идентичного человеческому IFN α -2b происходит накопление IFN α -2b с формилметионином на N-конце. При нормальных условиях данный формируемый метионин удаляется собственными ферментами культуры: пептидил-деформилазой и метионинаминопептидазой, удаляющей сам N-концевой метионин. Наличие N-концевого формилметионина оказывает негативное влияние на стабильность и иммуногенность

интерферона: длительное введение в качестве терапевтического препарата приводит к образованию специфических антител. Вследствие этого проблема удаления N-концевого метионина приобретает важное значение. На настоящий момент данная проблема решалась в основном за счет создания новых генетических конструкций, но не условий культивирования.

Цель данной работы состояла в поиске возможностей исключения (или уменьшения) содержания IFN α -2b с N-концевым формилметионином с помощью изменения условий культивирования.

В ходе работы было изучено влияние температуры, планируется изучить влияние аэрации и состава среды на продукцию IFN α -2b N-концевым формилметионином при культивировании двух штаммов *Escherichia coli* BL 21 в колбах (V=2 л) на качалке.

На втором этапе было проведено культивирование исследуемых штаммов при пониженной температуре (30°C) в лабораторном ферментаторе BioFlo 110 (V_{раб.}=10 л). В сравнении с культивированием при обычной температуре (37°C) при прочих равных условиях динамика роста была значительно снижена (более чем в 2 раза), выход IFN α -2b с N-концевым формилметионином снизился почти на 10%. Принципиальной разницы в качестве интерферона между двумя штаммами выявлено не было. Однако, при одновременном понижении температуры (до 30°C) и постоянной подаче глюкозы в среду выход IFN α -2b с N-концевым формилметионином снизился до 18% при сохранении выхода биомассы на прежнем уровне.

Качество IFN α -2b и его выход оценивали с помощью обратно-фазовой ВЭЖХ.

Также было проведено клонирование штамма-продуцента с замедленной кинетикой синтеза. Получен низкопродуктивный клон, что должно повысить вероятность более полного отщепления остатков муравьиной кислоты и метионина с N-конца при помощи собственных ферментов *Escherichia coli* BL21.

Таким образом, на данный момент показана возможность регулирования соотношения IFN α -2b и IFN α -2b с N-концевым формилметионином с помощью условий культивирования. Ведутся работы по снижению уровня синтеза и понижению выхода IFN α -2b с N-концевым формилметионином.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ *CUPRIAVIDUS EUTROPHUS* B10646

Виноградова О.Н.

ФГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

olgav88@mail.ru

Развитие науки и техники приводит к более широкому внедрению в практику различных целевых продуктов, синтезируемых живыми системами, в том числе разрушаемых биополимеров, среди которых особое место принадлежит полимерам микробиологического происхождения – полигидроксиалканатам (ПГА). Среди продуцентов ПГА заслуживают внимания водородокисляющие микроорганизмы, которые синтезируют ПГА с высокими выходами на различных гетеротрофных субстратах, включая отходы, а также в автотрофных условиях, используя для конструктивного обмена CO₂, а в качестве энергии – реакцию окисления H₂.

В настоящей работе исследован штамм водородокисляющих бактерий *Cupriavidus eutrophus* B10646 в автотрофном режиме выращивания и способность к синтезу сополимерных ПГА различного химического строения при использовании в качестве основного углеродного субстрата CO₂.

Режим периодического культивирования бактерий включал лимитированную подачу азота на первом этапе и рост бактерий без азота – на втором этапе. Лучшие характеристики получены при обеспеченности культуры азотом на 50%, на первом этапе (из расчета 60 мг/г биомассы). К концу опыта содержание полимера в клетках составило 85%. Резистентность штамма к солям алкановых кислот и γ -бутиролактону позволила провести цикл выращивания *C. eutrophus* B10646 при внесении в автотрофную культуру одновременно двух субстратов-предшественников: пропионата калия и γ -бутиролактона. В результате впервые в автотрофной культуре *C. eutrophus* B10646 синтезирована серия сополимерных ПГА различного строения, в

которых идентифицированы макровключения 3-гидроксипутирата (от 25,30 до 59,50 мол.%), 3-гидроксивалерата (от 5,40 до 20,20 мол.%), 4-гидроксипутирата (от 23,6 до 62,5 мол.%). С применением современных методов анализа в сравнительном аспекте исследованы физико-химические свойства сополимерных ПГА различного химического состава, синтезированных *Cupriavidus eutrophus* B10646.

Таким образом, используя разработанный двустадийный периодический режим культивирования бактерий, без существенной перестройки технологического процесса в целом, варьируя условия углеродного питания культуры *C. eutrophus* B10646, выращиваемой на газовой смеси CO₂/O₂/H₂ в качестве основного ростового субстрата, реализованы способы получения образцов ПГА с различным соотношением мономеров, существенно различающиеся физико-химическими свойствами.

ОЦЕНКА БИОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА И АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ АКТИНОМИЦЕТАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ЛИЧИНОК БАЙКАЛЬСКИХ РУЧЕЙНИКОВ

Войцеховская И.В.^{1,2}, Протасов Е.С.^{1,2}, Аксёнов-Грибанов Д.В.²

¹ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет; ²НИИ биологии Иркутского государственного университета, Иркутск, Россия

irina.voytsekhovskaya@gmail.com

В ходе данного исследования из личинок байкальских эндемичных ручейников *Trichoptera* sp. выделено 12 штаммов актиномицетов, которых для оценки синтеза новых биологически активных соединений культивировали глубинно на средах SG и NL-19.

Установлено, что десять штаммов выделенных актиномицетов относились к роду *Streptomyces*, а два штамма были отнесены к родам *Frigoribacterium* и *Agromyces*. Были проведены тесты на определение антибиотической активности экстрактов из биомассы, культуральной жидкости и агаровых блоков актиномицетов против ряда модельных штаммов бактерий и грибов. В ходе анализа с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией, были получены масспекхромограммы экстрактов наиболее активных штаммов.

Показано, что данные актиномицетные штаммы обладали антибиотической активностью против всего ряда модельных штаммов. В ходе анализа масспекхромограмм выявлено, что процент неидентифицированных соединений составляет не менее 80% от числа всех соединений.

Таким образом, данное исследование указывает на то, что актиномицеты Байкала, ассоциированные с байкальскими организмами, обладают высоким биосинтетическим потенциалом и антибиотической активностью к ряду модельных штаммов.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов Минобрнауки РФ (ГЗ 6.382.2014/К), РНФ (14-14-00400), CRDF (18237), РФФИ (14-04-00501, 15-04-06685) и ФГБОУ ВПО «ИГУ». Участие Войцеховской И.В. в конференции поддержано фондом М. Прохорова по программе Академическая мобильность.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ «ВСТЫК» ДЛЯ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ ФРАГМЕНТИРОВАННОЙ ДНК

Галимова А.А., Сахабутдинова А.Р., Гарафутдинов Р.Р.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

aiz.galimova@yandex.ru

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в настоящее время применяется в биологии и медицине для решения широкого круга научных и практических задач, что обусловлено значительными возможностями при относительной простоте метода, высокой чувствительности, надежности и небольшой себестоимости. Как правило, для проведения ПЦР используются ДНК-матрицы хорошего качества, выделенные из свежих биоматериалов и в достаточном количестве. При работе со «сложными» объектами, такими как низкокопийная

ДНК (единичные молекулы анализируемой ДНК), разрушенная ДНК (ДНК из старых/древних биоматериалов или подвергшихся химическому и/или физическому воздействию), смесь ДНК (искомая + фоновая) ПЦР-анализ становится нетривиальной задачей, требующей методических отклонений от традиционных подходов.

Нами изучена возможность использования метода полимеразной цепной реакции с системой праймеров «встык» для детекции разрушенной ДНК. Были подобраны 2 пары праймеров к ДНК пчелы: праймеры «встык» (*aF-aR*), отжиг 3'-концов которых происходит на смежных нуклеотидах комплементарных цепей матрицы без образования нуклеотидного промежутка, и «классические» (*F-R*) праймеры с расстоянием между праймерами более 200 нуклеотидов. Длина продуктов ПЦР для праймеров «встык» составила 38 пар оснований, для «классических» праймеров – 255 пар оснований.

В модельной системе на искусственно фрагментированной ДНК показано, что сближенное расположение прямого и обратного праймеров обеспечивает эффективную амплификацию при сохранении ее специфичности, в то время как использование стандартных праймеров не приводит к образованию специфических ампликонов. Важным преимуществом системы праймеров «встык» является сокращение общего времени реакции, поскольку амплификация коротких фрагментов не требует установления больших величин времени денатурации, отжига и элонгации.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИММУНОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСА ЯЩУРА НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Гусева К.А.^{1,2}, Руденко Н.В.^{1,2}, Шепеляковская А.О.¹, Каратовская А.П.^{1,2}, Бровко Ф.А.^{1,2}

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

gkseniya92@mail.ru

Ящур – острая инфекция вирусного происхождения, протекающая с интоксикацией и поражением слизистых оболочек полости рта, носа, кожи. Определяют 7 серотипов вируса (А, О, С, Азия-1, SAT -1, -2 и -3) и большое количество вариантов антигенных характеристик. Для России характерны типы А, О и Азия-1. Ситуацию осложняют множественность путей передачи инфекции, узкая специфичность приобретенного иммунитета, бессимптомные формы течения болезни и существование клинически сходных болезней животных. В связи с этим остро встает задача разработки специфических экспресс методов диагностики ящура.

Возбудитель ящура – сферический РНК-содержащий вирус семейства *Picornaviridae*, рода *Aphthovirus*. Белковый состав вириона представлен поверхностными структурными белками VP1, VP2, VP3. VP4 располагается внутри. Белок VP1 в большой степени ответственен за антигенные различия между серотипами вируса и несет эпитопы, к которым в организме инфицированного животного синтезируются диагностически значимые антитела.

Целью работы являлась разработка метода иммунохимического определения штаммов Шамир и ПанАзия вируса ящура на основе моноклональных антител (МА).

С помощью гибридной технологии была получена панель МА к вирусу ящура. 19 антител было получено после иммунизации денатурированным препаратом 146S частиц вируса штамма Шамир, 3 антитела – после гибридизации нативным препаратом 146S частиц вируса типа Азия. Независимо от способа иммунизации полученные антитела узнавали как нативные, так и денатурированные препараты 146S частиц вируса как штамма Шамир, так и штамма ПанАзия. За исключением МА Я7, узнающего в нативной конформации только 146S частицы препарата штамма ПанАзия. Антитела окрашивали белковую полосу, соответствующую VP1, в препаратах 146S частиц обоих штаммов, что было показано методом вестерн-блотт-анализа.

Тест-системы для детекции штаммов Шамир и ПанАзия разрабатывали в формате сэндвич – иммуноферментного анализа. В результате было выявлено, что детектирующие пары МА ШЯ54+ШЯ52bio и ШЯ54+ШЯ63bio определяли частицы вирусов обоих штаммов одинаково вплоть до концентрации 0,78 нг/мл. Пары антител ШЯ61+ШЯ101bio и ШЯ54+ШЯ54bio эффективнее выявляли частицы штамма ПанАзия, чем штамма Шамир. При этом пара

ШЯ61+ШЯ101bio демонстрировала максимальную чувствительность, выявляя антиген вплоть до концентрации 0,39 нг/мл. Пара Я7+Я1bio выявляла только частицы вируса штамма ПанАзия до концентрации 6,25 нг/мл.

В результате разработаны иммунохимические экспресс методы диагностики ящура, количественно выявляющие вирус ящура типа Азия-1, и отдельного штамма ПанАзия.

НАНОАНТИТЕЛА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ НОВЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНАЛИЗА БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Горайнова О.С.^{1,2}, Иванова Т.И.², Тиллиб С.В.²

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

²ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

OksanaGoryainova@ya.ru

Наноантитела – рекомбинантные белки, являющиеся производными однодоменных антиген-узнающих вариабельных фрагментов особых антител, присутствующих, наряду с обычными антителами, в норме у представителей сем. Camelidae (Верблюдовые) и у некоторых видов хрящевых рыб. В силу малого размера (~2x4 нм) и характерных структурных особенностей наноантитела имеют ряд преимуществ по сравнению с классическими антителами. В первую очередь, это их способность проникать вглубь тканей и распознавать эпитопы, недоступные классическим антителам. В настоящее время очевиден нарастающий интерес к использованию наноантител в широких областях биотехнологии и медицины.

Одно из актуальных направлений использования наноантител – предобработка сложной белковой смеси, такой как сыворотка крови человека, для повышения эффективности и чувствительности протеомного анализа (анализа белков-маркеров канцерогенеза, различных других патологий и инфекций). С помощью специфических наноантител можно как удалять высокопредставленные белки протеома (крови), так и обогащаться конкретными маркерными белками для их последующего сравнительного количественного и качественного анализа.

В нашей лаборатории инициирована работа по получению таких наноантител к различным белкам плазмы крови человека. В частности, нами уже получены наноантитела, специфически связывающие некоторые наиболее представленные в крови белки, такие как сывороточный альбумин, иммуноглобулины различных классов, и некоторые другие, которые пока не идентифицированы. Ранее в нашей лаборатории были получены наноантитела к известным маркерным белкам, таким как раковый эмбриональный антиген, фактор роста эндотелия сосудов, и многим другим. В настоящее время мы разрабатываем подходы для оптимального анализа конкретных маркерных белков путем различных комбинаций вычитания мажорных (фоновых) белков и обогащения, как правило, низкопредставленных целевых белков.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ШТАММОВ ПРОДУЦЕНТОВ МЕТИОНИН-Г-ЛИАЗ ИЗ *CITROBACTERFREUNDII*, *CLOSTRIDIUMTETANI* И *CLOSTRIDIUMSPOROGENES*

Дёгтев Д.И., Гнучих Е.Ю., Манухов И.В.

ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; ГНЦ РФ ФГУП Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Россия

dmitry.dergtev@mail.ru

Метионин-γ-лиаза – MGL, является пиридоксаль-5'-фосфат-зависимым ферментом, катализирующим реакцию γ-расщепления L-метионина с образованием метилмеркаптана, иона аммония и α-кетобутирата. Исследуемый фермент считается перспективным противораковым агентом. Эффективность MGL показана *in vitro*, *in vivo*.

Целью настоящей работы является создание высокоэффективных продуцентов фермента, для дальнейшего использования MGL в практике лечения онкологических заболеваний. Для достижения этой цели были сконструированы гибридные плазмиды, содержащие ген *megL*,

кодирующий фермент MGL, из микроорганизмов *Citrobacter freundii*, *Clostridium tetani*, *Clostridium sporogenes*. Гибридные плазмиды трансформированы в штамм *Escherichia coli* BL21(DE3).

Разработана эффективная технология биосинтеза фермента и процедура очистки для дальнейшего проведения доклинических и клинических испытаний. Получены штаммы с эффективностью 0.9, 0.5, 0.4 грамма фермента с литра питательной среды соответственно для генов *megL* из *C. freundii*, *C. tetani*, *C. sporogenes*. В ходе работы были получены кинетические параметры ферментов. Выявлена наиболее высокая удельная активность MGL из *C. sporogenes*, 12.8 у.е., $k_{cat}=9.9 \text{ c}^{-1}$, $K_m=0.43 \text{ мМ}$.

Проведено секвенирование трех генов *megL*. Выбраны аминокислоты, которые могут влиять на активность фермента. С целью увеличения эффективности МГЛ конструируются плазмиды, содержащие мутантные гены.

РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ ЛАТЕКСА ДЛЯ БЫСТРОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО НЕКРОЗА ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ ТКАНИ ЛОСОСЕВЫХ (IHNV)

Доронин М.И.¹, Пыльнов В.А.¹, Бровко Ф.А.²

¹ФГБУ Федеральный центр охраны здоровья животных, Владимир; ²Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия
doronin@arriah.ru

Инфекционный некроз гемopoэтической ткани (IHNV) – высококонтагиозное вирусное заболевание лососевых рыб (сем. *Salmonidae*), вызываемое РНК-вирусом семейства *Rhabdoviridae*. Заболевание протекает по типу эпизоотии и характеризуется тяжелым поражением органов гемopoэза, развитием септического процесса и массовой гибелью молоди. По данным Всемирной Организации здоровья животных (ОЗЖ, МЭБ), в течение последних десяти лет было зарегистрировано около 100 вспышек IHNV в разных странах мира. Эпизоотическая ситуация по данному заболеванию в нашей стране является довольно неблагоприятной, поэтому в соответствии с приказом Минсельхоза России IHNV отнесен к особо опасным болезням лососевых рыб, подлежащим мониторингу.

Лабораторную диагностику IHNV проводят с применением комплекса вирусологических, серологических и молекулярных методов. В настоящее время разрабатывают методы экспресс-диагностики данного заболевания, одним из которых является реакция агглютинации латекса (РАЛ), основанная на агглютинации латексных частиц, сенсibilизированных поликлональными антителами к антигенам IHNV.

В процессе синтеза латексных препаратов микросферы с разными функциональными группами (-COOH, -NH₂, -SO₄) иммобилизовали поликлональными антителами к IHNV. С целью оптимизации процесса и улучшения диагностических возможностей латексных тестов осуществляли поиск оптимальных условий для приготовления препаратов и проведения анализа. Наибольшая степень адсорбции биолиганда (827,33±0,72 мкг/мл) достигалась при использовании аминированных латексных частиц с диаметром микросфер 340 нм, которые сенсibilизировали поликлональными антителами с концентрацией 1 мг/мл в глицин-солевом буферном растворе с ионной силой 5 мМ и рН 7,0. Препараты, синтезированные в этих условиях, позволяли выявлять антигены IHNV с концентрацией более 100 нг/мл, титром инфекционной активности 3,0 Ig ТЦД₅₀/мл и выше. Диагностическая чувствительность полученных латексных тестов составила 96%, а специфичность – 100%.

В результате проведенных исследований были определены рекомендуемые условия синтеза латексных диагностикумов для быстрого выявления антигенов IHNV, разработаны методы контроля качества приготовленных препаратов и критерии оценки результатов РАЛ.

Разработанный метод является доступным по цене, простым и быстрым в исполнении, его можно применять в качестве скринингового метода диагностики IHNV.

ВЛИЯНИЯ БИООРГАНИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО НА АКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Евдокимова Е.В., Новоселова А.А.

ФГБОУ ВПО Уральский государственный лесотехнический университет,
Екатеринбург, Россия

kucla-mukla@mail.ru

Лимонник богат биологически активными веществами: лигнаны (в коре стеблей 5-9%, семенах 4-5%, мякоти зрелых плодов 4-5%), витамин С (до 70 мг%), витамин Р, Е, каротиноиды, эфирное масло и др. Кроме этого в плодах содержатся (в % на абсолютно сухую массу) сахара – до 16, танины – 3, пектины – 0,15. Высокая кислотность сока лимонника обусловлена повышенным содержанием в нем органических кислот (5,7%), среди которых доминируют лимонная, яблочная и винная. Плоды содержат макро- и микроэлементы: калий, марганец, кальций, железо, бор, титан, молибден, серебро и др.

Целью данной работы являлось изучение влияния биоорганического комплекса лимонника китайского на активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Нами разработана технология двухступенчатой водно-спиртовой экстракции плодов, коры и семян лимонника китайского. Содержание схиандрин в полученных экстрактах составило 3,1-5,5 г/дм³ (гидромодуль 1:10).

Полученные экстракты вносили в искусственную питательную среду – модифицированную среду Андреева в дозировке 1-3%. В качестве продуцента использовали хлебопекарные дрожжи ЛТ-17. Ферментация проводилась в условиях постоянной аэрации.

Использование экстрактов коры и семян оказалось менее эффективным, что связано с высоким содержанием пектинов, которые за счет повышения вязкости раствора снижают скорость диффузии через мембрану клетки. Кроме того, наблюдается агрегатизация дрожжей, оклеивание их слизеобразными веществами, препятствующими контакту дрожжей с питательной средой и ограничивающими процессы метаболизма клетки.

Экстракты плодов лимонника китайского заметно повышают скорость потребления сахарозы при всех используемых дозировках. Наибольший выход дрожжей достигается при использовании 3% экстракта, достижение данного выхода связано с более высокими затратами субстрата. Дрожжи характеризуются хорошими физиологическими свойствами: повышенное содержание гликогена, низкое содержание мертвых клеток (менее 1%), высокий процент делящихся клеток.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что экстракты плодов лимонника китайского могут использоваться в качестве активатора роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, что позволит увеличить выход дрожжей на 6-8 % и снизить себестоимость продукции и улучшение технико-экономических показателей всего производства. Рекомендовано вносить водно-спиртовой экстракт ягод лимонника в производстве хлебопекарных дрожжей на стадию роста маточных дрожжей в дозировке 2%.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТЕРИЛИЗУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА ЛИЗОФОРМИН 3000

Ефимова Е.Г.

ФГБОУ ВПО Поволжский государственный технологический университет,
Йошкар-Ола, Россия

sergeyevrv@volgatech.net

Одним из условий проведения работ в культуре *in vitro* является соблюдение строгой стерильности, т.е. полное отсутствие на поверхности первичного экспланта патогенной микрофлоры. Так как питательная среда на которую высаживают экспланты растений содержит в своем составе все необходимые для роста растения питательные вещества, а именно макроэлементы, микроэлементы, витамины, фитогормоны, органические добавки, сахара, попадая на среду споры грибов и бактерий начинают быстро расти и развиваться, захватывая питательный субстрат, выделяя продукты метаболизма, ингибирующие рост и развитие самого растения, что в конечном счете приводит к его гибели. Таким образом, для получения хорошо

растущей в условиях *in vitro* культуры необходимо уничтожить всю поверхностную микрофлору семян исследуемых видов растений *Cucumis sativus*, *Solanum lycopersicum*, *Pisum sativum*.

Промытые семена помещали в растворы стерилизующего агента Лизоформин 3000 с концентрациями 0,5 %; 1,0 %; 2,0 %, 5,0 % и 10,0 %. На каждый вариант концентраций использовали по 10 семян каждого вида исследуемых растений. Экспозиция для всех вариантов опыта составляла 5 минут. Далее семена промывали стерильной дистиллированной водой 5 раз. Отмытые от стерилизующего агента семена пинцетом перемещали на стерильный фильтровальный диск, раскладывали равномерно в один слой, после чего оставляли под УФ лампой на 5 минут. По истечении пяти минут семена переносили в чашки Петри d=10см на питательную среду MS по схеме 3-4-3. Чашки Петри с семенами помещали в термостат с температурой 27-29°C на три дня, после чего проводили анализ зараженности. Повторность – трехкратная.

Анализ полученных данных показал, что для стерилизации семян *Solanum lycopersicum* вполне достаточно использовать Лизоформин 3000 в концентрации 0,5 г/л, при этом число стерильных морфогенных эксплантов составляет в среднем 88,3%. Увеличение концентрации стерилизующего вещества вызывает гибель не только патогенной микрофлоры, но и ингибирует развитие зародыша семени. Для семян *Cucumis sativus* использование Лизоформин 3000 в концентрации 0,5 г/л позволяет получить лишь 68,4 % пригодных для работы эксплантов, а лучшим вариантом является концентрация стерилизующего агента 1 г/л. Обработка семян гороха посевного 2 г/л Лизоформина являются наиболее эффективным способом получения стерильного материала, при этом можно получить в среднем 73,5% пригодных для работы эксплантов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере.

МАГНИТОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИЗМЕРЕНИЕ СТЕПЕНИ ОКСИГЕНАЦИИ И СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Жолудь А.М., Кашевский С.Б.

ГНУ «Институт тепло- и массообмена им. А.В. Лыкова НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь

zholud.anton@gmail.com

Разработанный нами комплекс «Магнитоцитометр» позволяет измерять магнитные свойства клеток. Основу метода, реализованного в магнитоцитометре, составляет видеорегистрация движения клеток в неоднородном высокоградиентном магнитном поле и последующее определение магнитных свойств с помощью компьютерных алгоритмов анализирующих параметры траектории.

Для эритроцитов известно, что их магнитные свойства зависят от степени оксигенации, содержащегося в них гемоглобина

$$\chi = -0.736 \cdot 10^{-6} + (1-S) \cdot 0.264 \cdot 10^{-6}$$

где χ – магнитная восприимчивость эритроцитов, S – степень оксигенации гемоглобина в эритроците. Это соотношение позволяет с легкостью пересчитать значения магнитной восприимчивости в соответствующие значения степени оксигенации.

«Магнитоцитометр» имеет широкие возможности по анализу параметров траекторий движущихся клеток, что позволяет в том числе определять и скорость оседания эритроцитов. Один из способов представления полученных данных это построение диаграммы, на которой вдоль вертикальной оси откладывается *степень оксигенации*, вдоль горизонтальной – *скорость оседания*, что позволило получить важный результат.

Эксперименты с суспензиями эритроцитов, описываемые в данных тезисах, требовали следующей подготовки, разбавление до необходимой концентрации 1.5 млн/мл, последующая дезоксигенация и оксигенация. Суспензии эритроцитов разбавляли в растворе, содержащем 0.9% NaCl и 2% альбумина. Дезоксигенация производилась путем прокачивания через плотно закрытую пробирку с суспензией эритроцитов азота в течение 40 минут, оксигенацию проводили аналогичным образом, только прокачивался кислород.

Результаты этих экспериментов были представлены на диаграммах *степень оксигенации – скорость оседания*, что позволило обнаружить корреляцию между этими величинами. Полученные данные свидетельствуют о том, что эритроциты, которые оседают быстрее, способны переносить меньше кислорода. Возможно, это связано с изменениями, происходящими с эритроцитами при их старении.

ЛАЗЕРНЫЙ «ПИНЦЕТ» – МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ УПРУГИХ СВОЙСТВ БИООБЪЕКТОВ

Залесский А.Д.^{1,2}, Осыченко А.А.¹, Надточенко В.А.¹

¹ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва;

²ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

aleksandr.zalesskij@phystech.edu

Лазерные операции на клетках и эмбрионах – актуальное направление современной фотобиологии и биофотоники. Высокая плотность мощности остро сфокусированного лазерного излучения способна обеспечить эффективное воздействие света на вещество клетки, субклеточной структуры или органеллы. Точная фокусировка лазерного пятна обеспечивает строго контролируруемую оптическую манипуляцию с объектом изучения. Лазерный «пинцет» является разновидностью неинвазивного метода исследования, основанного на использовании остро сфокусированного лазерного излучения. Этот метод позволяет прикладывать к объектам изучения деформирующие и дислоцирующие силы, что в свою очередь позволяет изучать упругие свойства этих объектов.

Настоящая работа посвящена изучению упругих свойств ядрышка GV-ооцита.

Оптический «пинцет» создавался фокусировкой непрерывного лазерного излучения Ti:Sapphire осциллятора (фирма Avesta Project) на длине волны 790 нм, что соответствует «окну прозрачности» биологического материала. Средняя мощность лазерного излучения в предметной плоскости объектива составляла 260 мВт. Лазерное излучение фокусировалось в область ядрышка ооцита.

Было продемонстрировано, что ядрышко ооцита упруго связано со своим положением в клетке – при помощи лазерного «пинцета» ядрышко смещалось относительно своего первоначального положения, однако после прекращения воздействия оно возвращалось в исходное положение. При этом наблюдалась упругая деформация самого ядрышка. В ходе работы был установлен средний эффективный коэффициент упругости ядрышка, он составил 3,7 пН/мкм.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (грант 14-14-00856).

СОЗДАНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ BRASSICA NAPUS – ДОНОРОВ УСТОЙЧИВОСТИ К TURNIP MOSAIC VIRUS

Зубарева И.А., Виноградова С.В., Игнатов А.Н.

ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия

coatprotein@bk.ru

Вирус мозаики турнепса (Turnip mosaic virus, TuMV) – один из самых распространенных растительных вирусов. Получение устойчивых к TuMV сортов и гибридов является экологически безопасным способом снижения его вредоносности. Для ускорения селекционного процесса применяют биотехнологические методы, направленные на получение исходного материала, в том числе методы получения гаплоидных линий.

В рамках данной работы мы провели скрининг коллекции растений семейства *Brassicaceae* (136 образцов) на устойчивость к шести изолятам TuMV. По результатам оценки устойчивости было отобрано 13 образцов с устойчивостью ко всем шести изолятам TuMV, которые использовали в качестве исходного материала для получения удвоенных гаплоидных линий Brassica через изолированную культуру микроспор.

Для получения гаплоидных линий донорные растения выращивали до стадии бутонизации и собирали соцветия с бутонами размером 2,0-3,5 мм. Для изоляции микроспор из пыльников и получения суспензионной культуры использовали питательную среду NLN с добавлением L-серина, L-глутамина, глутатиона и 13% сахарозы. Для индукции эмбриогенеза изолированную культуру микроспор подвергали тепловому шоку при +32°C, +33°C и +35°C в течение 24, 48 и 72 ч в темноте. Далее чашки Петри с образцами культивировали в темноте при +25°C. Через 21 день после изоляции микроспор эмбриониды переносили на агаризованную питательную среду, состоящую из ½ MS – Murashige и Skoog для формирования семядольных листьев и корневой системы. Через 3 недели культивирования на твердой питательной среде хорошо развитые растения-регенеранты адаптировали к почвенным условиям. Определение уровня ploидности растений проводили с помощью подсчета числа хромосом в меристеме корня и подсчета числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц. Для получения удвоенных гаплоидных линий использовали колхицин. В результате были получены удвоенные гаплоидные линии, устойчивые к TuMV.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект №14-08-31353).

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИТЕЛ К РЕКОМБИНАНТНОМУ ДОМЕНУ ТЕЛОМЕР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА TRF2

Ильичева Н.В.¹, Воронин А.П.^{1,2}

¹ФГБУН Институт цитологии РАН; ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

nad9009@yandex.ru

Теломеры – сложные ДНК-белковые комплексы, находящиеся на концах хромосом эукариотических организмов. На сегодняшний день предметом многочисленных исследований является роль теломер в клеточном старении. Теломер-связывающий белок TRF2 имеет в своём составе домен, функции которого неизвестны. Предполагается, что этот домен отвечает за взаимодействие TRF2 с ядерной мембраной. Основным инструментом для изучения механизмов этого взаимодействия, а также для изучения функций данного домена в целом, являются антитела к нему.

Целью настоящей работы было получение антител к рекомбинантному полипептиду udTRF2, соответствующему домену белка TRF2 с неизвестными функциями.

Рекомбинантный полипептид udTRF2 получали из лизата бактериальной культуры, выращенной в среде LB объемом 0,6 л. Клетки *E. coli RosettaBlue(DE3)*, несущие экспрессионную конструкцию pET32a-udTRF2, выращивали в термостате при 37°C и непрерывном перемешивании (200 об/мин). Для индукции экспрессии в среду добавляли IPTG до концентрации 0,4 мМ и продолжали культивирование в течение 3,5 часов. Полипептид udTRF2 выделяли из лизата бактериальной культуры с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с последующей экстракцией из геля и очищали путем осаждения смесью метанола с хлороформом. Концентрация белка после выделения составила около 10 мкг/мл.

Для иммунизации использовали морских свинок (самцы массой 400-500г). Полипептид вводили трехкратно с перерывами в 8–10 дней по 20 мкг полипептида на одну дозу инъекции. Иммунную сыворотку получали на 10 сутки после последней инъекции. Наличие в сыворотке антител к udTRF2 определяли методом иммуноблоттинга. Для проверки был использован лизат ядер, выделенных из клеток печени мыши *Mus musculus*, и лизат бактерий, экспрессирующих udTRF2. По данным иммуноблоттинга, антитела полученной иммунной сыворотки взаимодействуют с одним из белков ядерного лизата. Кажущаяся молекулярная масса этого белка составляет примерно 70 кДа, что соответствует молекулярной массе белка TRF2. Среди белков бактериального лизата антитела сыворотки взаимодействуют с двумя белками, одним из которых является полипептид udTRF2.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и гранта РФФИ (№ 15-04-01857).

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РИККЕТСИОЗОВ В ПЦР С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Терновой В.А.

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
Новосибирск, Россия

kartashov_myu@vector.nsc.ru

Род *Rickettsia* представлен мелкими полиморфными α -протеобактериями, многие из которых являются возбудителями инфекционных заболеваний человека. На территории РФ официально регистрируется заболеваемость Североазиатским клещевым риккетсиозом, Астраханской пятнистой лихорадкой и Дальневосточным клещевым риккетсиозом, однако использование современных молекулярно-биологических методов позволило обнаружить в переносчиках, собранных в разных регионах России, генетический материал и других патогенных видов риккетсий.

Цель исследования заключалась в разработке и апробации высокоэффективного метода выявления генетического материала риккетсий, основанного на полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Для конструирования ПЦР-РВ теста использовались оригинальные праймеры, комплементарные к наиболее консервативным участкам гена цитратсинтазы (*gltA*) риккетсий. В качестве положительного контрольного образца в ПЦР-РВ была использована рекомбинантная плазмидная ДНК рCR2.1, содержащая нуклеотидную последовательность фрагмента гена-мишени.

Эксперимент по оценке аналитической чувствительности разрабатываемого теста был проведен с использованием последовательных 10-кратных разведений рекомбинантной плазмиды. Показано, что ПЦР-РВ тест обладает высокой чувствительностью, что позволяет надежно выявлять ДНК риккетсий в концентрации от 80 геном-эквивалентов в исследуемом образце. Общее время проведения анализа с учетом пробоподготовки составляет не более 3-х часов.

Для оценки аналитической специфичности была использована панель, содержащая геномную ДНК человека, мыши, клещей различных видов (*I. persulcatus*, *I. pavlovskyi*, *I. ricinus*, *D. reticulatus*, *H. anatolicum*), возбудителей других инфекций, передающихся клещами (*A. phagocytophilum*, *E. muris*, *E. canis*, *B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. divergens*, *B. microti*), кДНК вируса клещевого энцефалита штаммов 205 и Коларово-2008). Отрицательные результаты ПЦР-РВ анализа с каждым из вышеперечисленных образцов позволили оценить специфичность набора по использованной выборке образцов как 100%.

Данная тест-система была апробирована на 310 образцах клещей видов *I. persulcatus*, *I. pavlovskyi*, *D. reticulatus*. Результаты анализа по выявлению ДНК риккетсий в клещах различных видов, полученные с помощью ПЦР-РВ тест-системы и ПЦР теста с электрофоретической регистрацией результатов совпали на 99-100%. Разработанная тест-система позволяет надежно выявлять различные генетические варианты *R. sibirica*, *R. raoultii*, *R. helvetica* и *R. tarasevichiae*, распространенные на территории России и сопредельных государств.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ АММОНИЙНОГО АЗОТА

Кельник Д.И., Петрова Г.М., Глушень Е.М., Самсонова А.С.

ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

kelnik.daria@yandex.ru

Интенсификация очистки сточных вод от аммонийного азота, поступающего на биологические очистные сооружения в высоких концентрациях, наиболее эффективна при использовании микробных препаратов на основе специализированных микроорганизмов.

Цель работы состояла в подборе оптимальных условий культивирования микроорганизмов, активно потребляющих аммонийный азот, перспективных в создании микробного препарата.

Отработка параметров культивирования штаммов *Rhodococcus sp. ДД*, *Bacillus sp. ДК-18*, *Bacillus sp. ДДК-11*, *Pseudomonas sp. ГПД-7*, ранее выделенных нами методом накопительных культур, активно утилизирующих аммонийный азот, проводили в лабораторных условиях. Культивирование бактерий осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 500 мл, содержащих 250 мл среды Мейнелла для *Pseudomonas sp. ГПД-7*, *Bacillus sp. ДК-18* и *Bacillus sp. ДДК-11* и среды Е-8 для *Rhodococcus sp. ДД*. Выбор оптимальных параметров культивирования провели в интервале температур 24-28°C, скорости перемешивания 50-160 об/мин, рН 6-7,5, времени культивирования – до достижения количества КОЕ/мл не менее $1 \cdot 10^9$.

Установлено, что оптимальными условиями культивирования *Rhodococcus sp. ДД* являются: температура – +27°C, обороты шейкера-инкубатора – 50 об/мин, рН=6.9-7.1, продолжительности культивирования – 96 часов.

Условия культивирования *Pseudomonas sp. ГПД-7* оптимальные для достижения требуемого титра: температура – 28°C, перемешивание в режиме 150 об./мин, рН=6,0-7,0, продолжительность культивирования 72 часа.

Титр клеток *Bacillus sp. ДК-18* и *Bacillus sp. ДДК-11*, обеспечивающий получение максимального уровня биомассы за 48 часов, достигается при температуре 28°C, 120 об/мин шейкера-инкубатора, рН=6.8-7.0.

Сравнение режимов отдельного и совместного культивирования показало, что оптимальной является совместная наработка культур *Pseudomonas sp. ГПД-7*, *Bacillus sp. ДК-18* и *Bacillus sp. ДДК-11* и отдельная культуры *Rhodococcus sp. ДД*. Отдельное и совместное культивирование *Pseudomonas sp. ГПД-7*, *Bacillus sp. ДК-18* и *Bacillus sp. ДДК-11* обеспечивает возможность получения через 72 часа практически равного количества биомассы, что не исключает возможности обоих исследованных вариантов культивирования указанных бактерий при их промышленном выращивании. Условия совместного культивирования *Pseudomonas sp. ГПД-7*, *Bacillus sp. ДК-18* и *Bacillus sp. ДДК-11*, оптимальные для получения максимального выхода биомассы: температура – +28°C, интенсивность аэрации – 20 л воздуха/л среды/ч, время культивирования – 72 часа.

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Кирсанова П.О.¹, Надеждин С.В.¹, Чуев В.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет; ²ЗАО «Опытно-экспериментальный завод «ВладМиВа», Белгород, Россия

kirsanova_polina_work@mail.ru

В связи с высокой потребностью в биосовместимых и биорезорбируемых материалах нового поколения, в современной челюстно-лицевой хирургии и стоматологии постоянно происходит поиск новых и совершенствование имеющихся компонентов природного и искусственного происхождения. Задачей данного исследования стала оценка эффективности и биосовместимости компонентов новых стоматологических материалов ЗАО «ОЭЗ «ВладМиВа» в опытах *in vivo*.

В работе исследовали 4 вида материалов: материал на основе наноразмерных растительных фосфолипидов, индометацина и мальтозы (группа 1); материал на основе диоксида циркония стабилизированного иттрием, 12% масс. (группа 2); материал на основе 10% кремнийсодержащего гидроксилпатита (ГАп) (группа 3); материал на основе 10% карбонатсодержащего ГАп (группа 4).

Исследование биосовместимости материалов проводили с помощью метода гетеротопической подкожной имплантации крысам (беспородные белые крысы; условия содержания – *ad libitum*). Имплантация образцов проводилась по 1 шт./крысу в прослойку соединительной ткани на спине животного. После эксплантации окружающие материал ткани оценивались макро- и микроскопически и подвергались стандартному гистологическому анализу.

Были получены следующие результаты: все имплантированные композиции стоматологических материалов являются биосовместимыми и не вызывают дегенеративных изменений в окружающих тканях; степень реакции ткани на инокуляцию имплантата – менее

0,8 мм (группа 1); 0,5 мм (группа 2); 1,5 мм (группа 3 и 4); объем регенераторного процесса составил 30%, 20%, 80%, 82% для каждого из образцов соответственно.

Проведенный эксперимент показал, что наиболее эффективным, по сравнению с другими группами, является материал на основе диоксида циркония стабилизированного иттрием (группа 2); наиболее резорбируемым – материал на основе наноразмерных растительных фосфолипидов (группа 1); наименее эффективными (по времени регенерации) – материалы на основе кремний- и карбонатсодержащего Гап (группа 3 и 4).

Таким образом, можно заключить, что наиболее перспективными компонентами для изготовления стоматологических материалов являются вещества на основе диоксида циркония стабилизированного иттрием и наноразмерных растительных фосфолипидов.

ПРОДУЦЕНТ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ IX – ЧАСТНОЕ РЕШЕНИЕ НА ОСНОВЕ ПЛАТФОРМЫ P1.1/P1.2. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ КОНСТРУКЦИИ, УДЕЛЬНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И АКТИВНОСТЬ ЦЕЛЕВОГО РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА

Ковнир С.В.^{1,2}, Орлова Н.А.^{1,2}, Шахпаронов М.И.², Воробьев И.И.^{1,2}

¹ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН; ²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

kovnir.serge@gmail.com

Фактор свертывания крови IX (FIX) – основной агент заместительной терапии гемофилии Б.

Для получения терапевтических белков в клетках СНО нашей лабораторией было разработано платформенное решение на основе плазмидных векторов p1.1/p1.2 в которых транскрипция целевого гена находится под контролем промотора гена Фактора Элонгации 1- α (СНО EF1- α), а его рамка считывания фланкирована нетранслируемыми регионами СНО EF1- α . Для генерации продуцента FIX был использован бицистронный вектор p1.1-F9 с целевым человеческим геном (*hFIX*), а в качестве гена устойчивости к кластогенному селективному маркеру метотрексату (MTX) использовался *dhfr* (дигидрофолатредуктаза), под контролем сайта интеграции рибосомы цитомегаловируса (IRES). Полученные при селективном давлении MTX 200 нМ наилучшие моноклональные линии достигали удельной продуктивности 3 пкг/клт/день, при их доле в неклонированных культурах >10%. При этом копийность вставки *hFIX* в исследованных линиях (7-4/копий/геном) оказалась меньше усредненного показателя для поликлональной культуры при (21 копия/геном). Дальнейшая амплификация *hFIX* производилось двукратно возрастающими концентрациями MTX до 4мкМ. Полученная моноклональная культура имела 75 копий/геном и удельную продуктивность 10,7 пкг/клт/день по массе. Однако коагулометрический анализ синтезируемого FIX показал его низкую активность 3.7МЕ/мкг. Малое содержание активной формы белка было подтверждено ELISA обнаружением 97% доли непроцессированного пропептида FIX.

Активность FIX обеспечивается отщеплением пропептида протеиназой PACE/Furin и витамин-К зависимым гликозилированием, зависимым от VKORC1. Для их использования был создан вектор p1.2. Его селективные некластогенные агенты – антибиотики, транскрипция генов устойчивости которых находится под контролем промотора SV40. Сочетание вектор p1.2/антибиотик позволяет получить для Зеоцина 1 мг/л интеграцию целевого гена порядка единиц копий/геном, а для Гигромицина Б 0,75 мг/л – нескольких десятков копий/геном.

Были созданы и успешно трансфецированы векторы p1.2-rHug-Furin и p1.2-rZeo-VKR. Для полученной стабильной поликлональной линии продуктивность составила 5,8пкг/клт/день, копийность *hFIX* снизилось до 40 копий на геном, но доля процессированного FIX возросла до 97%. Получен моноклональный продуцент с удельной продуктивностью 11,2 пкг/клт/день с содержанием неактивной формы <1,5%. Для секретируемого рекомбинантного FIX показана возможность очистки и концентрирования в формуляцию фармацевтического качества.

СТАБИЛИЗАЦИЯ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТАМИ ДЛЯ ОДНОЭТАПНОГО ПОКРЫТИЯ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ

Коннова С.А., Данилушкина А.А., Фахруллин Р.Ф.

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

anchutka412@mail.ru

Введение: В большинстве случаев для покрытия наночастицами живых клеток используют метод послойного нанесения полиэлектролитов. У данного метода есть два недостатка: длительный процесс нанесения полиэлектролитов и подавление жизнеспособности покрываемых объектов. Для сокращения времени покрытия биологических объектов наночастицами мы предлагаем их заблаговременную подготовку (стабилизацию полиэлектролитами). Также мы решили выяснить влияние полиэлектролит-стабилизированных серебряных наночастиц на жизнеспособность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli*.

Материалы и методы исследования: Для стабилизации серебряных наночастиц мы использовали следующие полиэлектролиты: PАН (polyallylamine hydrochloride), PEI (polyethyleneimine), PDADMAC (poly(diallyldimethylammonium chloride)). Растворы данных полиэлектролитов добавляли к наночастицам серебра, активно перемешивали, обрабатывали ультразвуком. На последнем этапе проводили отмывку полученных частиц от избытка полиэлектролита. Затем проводили покрытие клеток дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* полученными полимер-стабилизированными серебряными наночастицами. Для определения влияния полиэлектролитов и серебряных наночастиц на жизнеспособность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* мы использовали следующие тесты на токсичность: окрашивание витальными красителями (FDA, Propidium iodide) и построение кривой роста.

Результаты: Серебряные наночастицы были стабилизированы полиэлектролитами: PАН, PDADMAC, PEI. Полученные полимер-стабилизированные серебряные наночастицы были охарактеризованы следующими видами микроскопии: атомно-силовая микроскопия, просвечивающая электронная микроскопия, гиперспектральная система CytoViva. Дрожжи и бактерии были покрыты полимер-стабилизированными серебряными наночастицами. Также были проведены тесты на жизнеспособность.

Обсуждение: По полученным данным кривых роста дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* следует, что полиэлектролит PАН слабо влияет на их жизнеспособность ($95,9 \pm 7,8\%$ живых клеток отн. контроля), полиэлектролит PDADMAC влияет сильнее ($93,6 \pm 5,2\%$ отн. контроля), а PEI ещё сильнее ($63,3 \pm 6,1\%$ отн. контроля). Сами серебряные наночастицы мало влияют на жизнеспособность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* ($97,9 \pm 2,1\%$ отн. Контроля). Полученные нами полимер-стабилизированные серебряные наночастицы значительно упрощают процесс покрытия клеток.

Вывод(ы): Наибольшей цитотоксичностью обладают серебряные наночастицы, стабилизированные полиэлектролитами PEI и PDADMAC.

Исследование было поддержано грантом Российского Научного Фонда №14-14-00924.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ ПОЧВ

Коновалова Е.А., Лазыкин А.Г., Дармов И.В.

ФГБОУ ВПО Вятский государственный университет, Киров, Россия

biologiavgu@yandex.ru

Нефть является не только источником топлива и энергии в мире, но и опасным и токсичным загрязнителем биосферы.

Нефтезагрязнение окружающей среды происходит из-за несовершенств технологий добычи, транспортировки и хранения нефти. Для ликвидации таких последствий в настоящее время используются и совершенствуются различные методы и технологий утилизации углеводородов.

Одно из перспективных направлений в данной области связано с биотехнологией применения иммобилизованных на носителях клеток углеводородокисляющих

микроорганизмов, то есть с использованием растительно-микробных ассоциаций. Преимущество метода заключается в повышении устойчивости клеток к действию неблагоприятных факторов внешней среды, в высокой каталитической активности клеток и их ферментов, в возможности повышать локальную концентрацию микробов в почве и избегать значительных потерь биомассы при использовании препарата.

При выборе метода предпочтение отдают иммобилизации как варианту физического метода фиксации клеток. Результативность подхода определяется используемым сорбентом, в качестве которого применяют природные, искусственные и синтетические материалы. Материалы естественного происхождения являются биоразлагаемыми, кроме того они доступны, что и определяет приоритетность их использования в качестве сорбентов.

В качестве природных сорбентов мы рассматриваем семена растений-фиторемедиантов, являющихся важным звеном при восстановлении загрязненного почвенного покрова. Данный подход позволяет реализовать два основных процесса: фиторемедиация и биоремедиация, которые должны активно осуществлять целевое воздействие на нефтепродукты в окружающей среде.

В ранее проведенных исследованиях сотрудниками кафедры микробиологии ВятГУ был выделен и идентифицирован наиболее активный в отношении нефти штамм *Pseudomonas delhiensis* В-11400, который был депонирован и включен во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов. На основе штамма была разработана лиофилизированная рабочая культура, которая предполагается к использованию в технологии производства биопрепарата.

В качестве сорбентов используются семена растений (лядвенца рогатого, клевера, люцерны). Проведение сравнительного изучения их иммобилизирующих свойств и биодegradационной активности является важным этапом в исследовании.

При выборе носителя обращали внимание на всхожесть, оптимальные условия роста, адгезивные свойства и удельную площадь поверхности адсорбции.

В ходе проведения работ предполагается получить новый биопрепарат, обеспечивающий высокоэффективную биоремедиацию загрязненных нефтяными экотоксикантами территорий.

РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭКТОДОМЕН M2 БЕЛКА ВИРУСА ГРИППА И ЭПИТОПЫ ГЕМАГГЛЮТИНИНА, ПРИСОЕДИНЕННЫЕ К TLR5 ЛИГАНДУ ФЛАГЕЛЛИНУ, КАК ОСНОВА НОВЫХ ВАКЦИН

Котляров Р.Ю., Блохина Е.А., Равин Н.В.

ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия

romankotlyarov@gmail.com

Основной проблемой при создании противогриппозных вакцин является необходимость создания вакцин, соответствующих вновь появляющимся штаммам вируса, обусловленная изменчивостью высокоиммуногенных поверхностных белков - гемагглютинина и нейраминидазы. Использование консервативных белков открывает возможности создания «универсальных» вакцин. Перспективным кандидатом является мембранный белок M2, последовательность внеклеточного домена которого (M2e пептид длиной 23 а.о.) практически неизменна у всех штаммов гриппа А человека. Однако, M2e обладает низкой иммуногенностью, поэтому для создания эффективной вакцины он должен быть присоединен к высокоиммуногенному белку-носителю. В своей работе в качестве белка-носителя M2e мы использовали флагеллин бактерии *Salmonella typhimurium* – лиганд Toll-like рецептора 5 (TLR5), известный как эффективный адьювант для интраназальной иммунизации. Для повышения эффективности кандидатной вакцины в ее состав наряду с M2e были также включены консервативные эпитопы гемагглютинина.

Мы сконструировали 3 гибридных белка: Белок Flg-4M2e, – флагеллин с присоединенными к нему на С конце 4 копиями M2e. Flg_HA_4M2e представляет собой флагеллин, к которому последовательно присоединены эпитоп гемагглютинина и 4 копии M2e. В третьем белке, Flg_4M2e_HA, M2e и эпитопа гемагглютинина включены на С-конце флагеллина в обратном порядке. Созданы штаммы *E. coli* – продуценты рекомбинантных белков.

Иммуногенность и протективное действие этих белков исследованы на мышах в НИИ Гриппа Минздрава РФ. Установлено, что интраназальная иммунизация животных вызывает эффективный иммунный ответ и обеспечивает защиту от заражения различными штаммами вируса гриппа. Гибридные белки, содержащие одновременно М2е и эпитоп гемагглютинаина, обеспечивали более высокий уровень защиты, чем Flg-4М2е.

ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЦИРКОВИРУСА СВИНЕЙ

Кравченко Л.М., Кудин К.В., Говоровский В.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Lidia_Kravchenko@tut.by

ДНК-вакцины относятся к типу принципиально новых биологических препаратов. С их разработкой связывают большие надежды на повышение эффективности профилактики не только инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной этиологии, но и аллергических, аутоиммунных и даже онкологических болезней. В классическом варианте данные вакцины состоят из плазмидных или вирусных векторов, которые содержат гены возбудителей инфекционных заболеваний. ДНК-вакцины урон животноводству, против которых бессильны имеющиеся профилактические подходы. В связи с этим введение в ветеринарную практику ДНК-вакцин позволит снизить потери животноводческих хозяйств и опасность для здоровья человека.

Серьезной экономической проблемой свиноводства является цирковирус свиней 2 типа (ЦВС-2). Данный патоген связан с развитием ряда синдромов и болезней, объединенных под одним термином ЦВС-2-ассоциированные заболевания, которые характеризуются истощением, отставанием в росте и развитии, поражением кожи, развитием респираторного и нефропатического синдромов.

Целью данной работы является получение генетической конструкции для создания ДНК-вакцины против цирковируса свиней.

Нами был разработан дизайн генетической конструкции, содержащей ген капсидного белка ЦВС-2, на основе плазмидного вектора pVAX1(Invitrogen). При помощи ПЦР к 5'-концу целевого гена присоединена последовательность Козак, окружающая стартовый кодон и важная для инициации трансляции в клетках эукариот, а к 3'-концу добавлен терминирующий кодон. Полученная таким образом последовательность была клонирована в составе вектора pVAX1 в клетках *E. coli* XL-1 Blue. Наличие целевого гена в плазидах, выделенных из трансформированных клеток, подтверждено рестрикционным анализом. На электрофореграмме были идентифицированы фрагменты ДНК размером около 700 пар оснований, что соответствует размеру области генома, кодирующей ген капсидного белка ЦВС-2.

В результате проведенной работы был получен штамм *E. coli* XL-1 Blue, содержащий плазмидный вектор с геном цирковируса свиней. В ходе дальнейшей работы планируется оценить эффективность экспрессии целевого гена в составе вектора и противовирусную активность полученных ДНК-вакцинных конструкций на культуре свиных клеток.

ИННОВАЦИОННОЕ СРЕДСТВО ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Кузнецова А.Е.

ФГБНУ Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт,
Саратов, Россия

sarnivi@mail.ru

Лейкоз крупного рогатого скота (ЛКРС) – одно из широко распространенных хронических заболеваний КРС. Возбудителем заболевания является РНК-содержащий вирус семейства *Retroviridae* – вирус лейкоза КРС (ВЛКРС). ВЛКРС по морфологическим признакам классифицирован, как онковирус типа С млекопитающих, содержащий в своем составе до 60% белков, из которых диагностически значимыми являются протеины р24 и гр 51, не имеющие

общих антигенных детерминант с основными внутренними белками других онковирусов животных типа С и D.

Своевременное выявление инфицированных и больных лейкозом животных – один из основных принципов борьбы с данным заболеванием. Общие методы диагностики лейкоза разработаны давно, однако многие из известных средств и способов диагностики не позволяют эффективно выявлять животных-вирусоносителей, трудоёмки и требуют дорогостоящего оборудования. Вышеизложенное определяет актуальность и необходимость поиска высокочувствительных культуральных моделей к ВЛКРС для производства антигенов вируса лейкоза КРС, разработки новых средств и методов ранней диагностики ЛКРС.

Целью наших исследований была оценка возможности и перспективности получения антигенов в перевиваемой линии клеток СПЭВ, хронически инфицированной онковирусами типа С и D, и разработка оптимальных условий культивирования данной клеточной линии

Механизмы персистенции и накопления онковирусов в перевиваемых линиях клеток изучены недостаточно. Известно, что активные формы кислорода эффективно уничтожают вирусы и онкоклетки. Поэтому при изготовлении антигена были определены оптимальные условия культивирования и накопления целевого продукта – онковирусов типа С и D в линии клеток СПЭВ. При соотношении жидкой и газовой фаз 5:1 (анаэробные условия), монослой тест-культуры (ТК) был компактным и многослойным, в цитоплазме клеток выявлялось большое количество онковирусов типа С и D. Полученные результаты показывают, что строгое соблюдение оптимальных условий анаэробного культивирования положительно сказывается на пролиферативной активности и сохранности монослоя клеток, а также увеличения накопления антигена онковирусов типа С и D.

Культивирование онковирусов С и D осуществляли стационарным методом в пластиковых культуральных флаконах в течение 5-6 суток при температуре $36\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в анаэробных условиях. Из надосадочной жидкости выделяли белковую фракцию с ММ от 75 до 82 кДа, которую использовали в качестве специфического антигена.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ: ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА), ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА)-СО-ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

Кузнецова Е.С., Акулина Е.А., Жаркова И.И., Бонарцев А.П.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова;

ФГБУН Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

kuznecova2793@mail.ru

Биоразлагаемые материалы стали неотъемлемой частью репаративной медицины. Усовершенствование методов их получения связано с внедрением передовых методов биотехнологии, а именно с использованием уникальных штаммов-продуцентов биорезорбируемых полимеров. Материалы, изготовленные из таких полимеров, обладают преимуществами по сравнению с химически синтезированными продуктами, такими как высокая степень чистоты и возможность варьирования физико-химических свойств.

Целью данной работы являлось изучение матриксов на основе полимеров из семейства полиоксиканоатов – поли(3-гидроксибутирата) и из его сополимера поли(3-гидроксибутирата)-со-полиэтиленгликоля, полученных путем биосинтеза высокопродуктивным штаммом-продуцентом *Azotobacter chroococcum* 7В.

Матриксы были получены методом выщелачивания с использованием смеси порообразователей, для создания пористых структур, соответствующих архитектуре кости. Для осуществления данной цели было поставлено несколько задач:

изучение морфологии материалов и их соответствие строению и функционированию костной ткани с применением широкопольной световой микроскопии и сканирующей электронной микроскопии;

изучение биосовместимости на модели взаимодействия матриксов с белком – бычьим сывороточным альбумином;

исследование материалов на цитотоксичность *in vitro*.

По результатам исследования были сделаны следующие выводы:

полученные матриксы близки по морфологии и пористости как к микро-, так и макростроению кости;

белок адсорбируется на поверхность образцов как обратимо, так и необратимо. При этом практически не происходит денатурации белка, исходя из чего, можно предположить, что материал не будет вызывать иммунного ответа

было показано, что на полученных матриксах мезенхимальные стволовые клетки в течение недели активно пролиферируют (число клеточных делений за 5 дней составило 2.9; константа скорости деления равна 0.75 кл. дел./сутки).

Таким образом, можно сказать, что изученные материалы готовы к последующим исследованиям *in vivo*.

ВВЕДЕНИЕ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Купешев Ж.С.¹, Райзер О.Б.¹, Тагиманова Д.С.¹, Абдрашева К.К.¹, Данилова А.Н.², Хапилина О.Н.¹

¹РГП «Национальный центр биотехнологии», Астана;

²РГП «Алтайский ботанический сад», Риддер, Казахстан

oksfur@mail.ru

Родиола розовая (*Rhodiola rosea* L., семейство *Crassulaceae*), является одним из наиболее ценных лекарственных растений, корни которого содержат около 140 компонентов. Рост популярности данного вида растений среди населения приводит к истощению природных популяций. На сегодняшний день данное растение ввиду высокой биологической ценности занесено в Красную книгу нескольких государств, в том числе и Казахстана. Применение методов культуры изолированных органов и тканей *in vitro* открывает перспективы для массового воспроизводства и сохранения ценного генофонда родиолы с помощью микроклонального размножения. Наиболее сложным моментом является этап введения в культуру *in vitro* растений из дикорастущих популяций, вследствие наличия инфекции в латентной форме.

Для введения в культуру *in vitro* был произведен сбор растений из 3 природных популяций Родиолы розовой, расположенных на территории казахстанского Алтая. Отработка нескольких способов стерилизации эксплантов родиолы выявила необходимость в подборе эффективного протокола для каждого типа экспланта – стеблевые, листовые сегменты, верхушечные или корневищные почки.

Многоступенчатые протоколы стерилизации, включающие обработку гипохлоритом натрия, перманганатом калия, этиловым спиртом и перекисью водорода позволили получить стерильные первичные экспланты, жизнеспособность которых была на уровне 55-74,5%. Реакция эксплантов родиолы зависела от типа и концентрации используемых фитогормонов. Для апикальных меристем наиболее оптимальными были среды, содержащие БАП и ИУК, это способствовало инициации прямого органогенеза. Индукция роста корневищных почек инициировалась на среде МС, обогащенной аминокислотами и гидролизатом казеина, с добавлением зеатина. Корневищные почки были наиболее инфицированными эксплантами, в этой связи для освобождения от внутренней инфекции осуществляли несколько пассажей на средах с повышенным (до 0,75%) содержанием агар-агара. Листовые экспланты характеризовались медленным ростом и низкой активностью к пролиферации, индукцию органогенеза проводили на среде МС, содержащей 2 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л БАП. Стволовые сегменты, содержащие пазушные почки, оказались наименее подходящим эксплантом: на всех вариантах используемых сред отсутствовали новообразования и прирост биомассы у эксплантов.

В наших исследованиях не было выявлено влияния генетических факторов на индукцию органогенеза в зависимости от типа экспланта.

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ БИОПТАТОВ КОЖИ ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ФИБРОБЛАСТОВ

Мещерякова Н.В.

ООО «Новейшая медицина», Москва, Россия

time-off@mail.ru

На сегодняшний день фибробласты дермы (ФД) являются перспективным материалом для клеточной терапии, прежде всего, для замедления возрастных изменений кожи и устранения ее недостатков, например, постугревых рубцов, шрамов.

ФД являются потомками мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Исследования показали большое сходство ФД и МСК: в морфологии, поверхностных маркерах, иммунологических свойствах. Возможно, ФД и МСК в будущем в определенной степени будут взаимозаменяемы. Так, в 2011 г. было показано, что ФД могут быть использованы для клеточной терапии артрита с целью подавления воспаления в суставах.

Метод криоконсервации позволяет хранить клетки и ткани в течение многих лет, не теряя их жизнеспособность. На сегодняшний день разработаны различные методики криоконсервации клеток и тканей с использованием криопротекторов разной химической структуры.

Целью данной работы было определение возможности криоконсервации биоптатов кожи (8 образцов) для последующего культивирования из них фибробластов. Образцы кожи объемом 5-7 мм³ были взяты методом биопсии. Фибробласты выделялись согласно протоколу Hwang VM, 2013. Дерма была разделена на 2 части с помощью бритвы, одна из частей сразу замораживалась, другая часть была посажена на чашку Петри для культивирования фибробластов и при достижении конфлюэнтного слоя замораживалась. Заморозка биопсии кожи проводилась согласно стандартному протоколу криоконсервации фибробластов в защитной среде (DMEM 70%, ЭТС 20%, DMSO 10%). После разморозки 100% биоптатов кожи, подвергшихся криоконсервации непосредственно после выделения дермы, сохранили способность выделять клетки, 100% предварительно культивированных биоптатов кожи сохранили способность выделять клетки.

Биопсии после выделения из них фибробластов в целях клеточной терапии утилизируются. Однако культивирование фибробластов имеет повышенный риск контаминации, так как изначально культура ведется в чашках Петри. В связи с этим существует риск утраты культуры. Выходом из этой ситуации могла бы стать процедура разделения биоптата кожи на две части, с последующей заморозкой одной из частей. Кроме того, криоконсервация биоптата кожи позволяет продлить возможность выделения клеток нулевого пассажа.

Остается открытым вопрос о допустимых размерах биоптатов кожи, сохраняющих способность выделять клетки при криоконсервации. Также остается невыясненным, как отражается повторная криоконсервация на биоптаты кожи.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ LR35, LR47, SR32, SR39 К БУРОЙ И СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНАМ В ОБРАЗЦАХ *AEGILOPS SPELTOIDES*, СИНТЕТИЧЕСКОЙ ФОРМЕ АВРОДЕС И ЛИНИЯХ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ИХ ОСНОВЕ

Миков Д.С.^{1,2}, Давоян Э.Р.¹, Давоян Р.О.¹, Зубанова Ю.С.¹, Жарченко Н.П.^{1,2}

¹ФГБНУ Краснодарский НИИ сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко,

²ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

dmmik@mail.ru

Ржавчинные болезни мягкой пшеницы, возбудителем которых являются грибы рода *Puccinia*, приводят к значительным потерям урожая. Поэтому вопрос устойчивости растений к этим болезням является одним из самых актуальных.

Существует несколько подходов к решению этой проблемы. Один из них состоит в обогащении генофонда мягкой пшеницы за счёт реликтовых форм и её дикорастущих сородичей. Богатейший запас генов устойчивости к болезням сосредоточен в эгилопсах. От вида *Ae. speltoides* на данный момент известно о передаче целого ряда генов устойчивости к

бурой и стеблевой ржавчинам, таких как Lr28, Lr35, Lr36 Lr47, Lr51, Sr32, Sr39. Среди них особый интерес представляют высокоэффективный во многих странах ген Lr47 (Helguera *et al.*, 2000; Zhemchizhina Kurkova, 2010; Shabnam *et al.*, 2011), а также ген Lr35, в одной транслокации с которым находятся гены устойчивости к стеблевой ржавчине Sr32 и Sr39.

С помощью молекулярных маркеров мы провели скрининг 12 образцов *Ae. speltoides*, синтетической формы Авродес и интрогрессивных линий (Авродес x Аврора), полученных в отделе биотехнологии КНИИСХ, на наличие в них высокоэффективных генов устойчивости Lr35(Sr32), Lr47, Sr39.

Специфические фрагменты амплификации, сцепленные с генами Lr35 (Sr32) и Sr39 были детектированы в синтетической форме Авродес, в то время как ген Lr47 не был выявлен. Во всех образцах *Ae. speltoides* выявлены гены Lr35 (Sr32), Sr39. В образцах *Ae. speltoides* 3256 и 1000 был выявлен ген Lr47. В линии P771 был детектирован ген Lr35, который сцеплен с геном Sr32. Также в этой же линии был детектирован ген Sr39. Все отобранные образцы были предварительно протестированы на устойчивость к бурой ржавчине. 13 из 22 линий несли устойчивость к бурой ржавчине. Оценка устойчивости к стеблевой ржавчине не проводилась за неимением штаммов патогена расы Ug99. Линия P771 несёт в себе высокоэффективный ген устойчивости к листовой ржавчине Lr35, а также гены устойчивости к стеблевой ржавчине Sr39 и, предположительно, Sr32, который сцеплен с Lr35. Ряд линий несут устойчивость к листовой ржавчине, но не имеют известных генов устойчивости; вероятно в них содержатся иные гены.

ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ pH НА БИОСИНТЕЗ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ *MORTIERELLA ALPINA* NRRL-A-10995 НА ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩЕЙ СРЕДЕ

Мионов А.А., Моргунов И.Г., Дедюхина Э.Г.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

asolfr@rambler.ru

Арахидоновая кислота (АК, – 5,8,11,14-цис-эйкозатетраеновая кислота) относится к ω-6 группе полиненасыщенных незаменимых жирных кислот, участвует в регуляции функционирования клеточных мембран и играет важную роль в метаболических процессах в качестве предшественника простогландинов, лейкотриенов и ряда эйкозаноидов. Благодаря своим уникальным биологическим свойствам широко используется в медицине, фармакологии, косметике, пищевой промышленности. Перспективным является использование АК в качестве стимулятора устойчивости растений к фитопатогенам.

Основными источниками получения АК являются печень и надпочечная железа животных, а также яичный желток, однако, содержание АК в них настолько мало, что не может удовлетворить растущих потребностей. Расширение сфер применения АК диктует необходимость развития ее микробиологического производства с использованием возобновляемых и дешевых источников углерода. Помимо того, желток куриных яиц содержит фосфор и холестерин, в связи с чем, его использование в больших количествах в качестве добавки к детскому питанию является нежелательным

В последние годы в качестве перспективного субстрата для микробиологических процессов рассматривается глицерин, который в настоящее время получается в больших количествах в качестве побочного продукта при производстве биотоплива.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы было исследование влияния pH на синтез арахидоновой кислоты штаммом *Mortierella alpina* NRRL-A-10995 среде с глицерином.

Выявлено, что оптимальным pH для получения арахидоновой кислоты (19,9% от липидов; 2,8 % от биомассы) является 6.0. Содержание арахидоновой кислоты в липидах незначительно изменялось при подщелачивании среды, при подкислении среды происходило снижение уровня АК, и при pH 3.0, синтез арахидоновой необратимо ингибировался. Самая высокая концентрация биомассы у *Mortierella alpina* NRRL-A-10995 наблюдалась при pH 7.0 и 8.0 (17,4 – 17,7 г/л), подкисление среды ингибировало рост культуры.

ПРОХОЖДЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАНОАЭРОЗОЛЕЙ ЧЕРЕЗ НАНОВОЛОКНИСТЫЕ СРЕДЫ

Михеев А.Ю., Канев И.Л., Морозов В.Н.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

zmiheev@gmail.com

Создание биологических аэрозолей для лечения лёгочных заболеваний или адресной доставки лекарств в лёгкие требует надежного метода контроля дозы. В качестве такого метода предложено использовать электротканые водорастворимые наночастицы из инертных полимеров, таких как поливинилпирролидон. С помощью водорастворимых фильтров можно собирать как субмикронные аэрозоли, так и наночастицы, концентрируя их в малый объём жидкой пробы без потери биоматериала.

Мы изучили прохождение модельных биологических наночастиц, через электротканые водорастворимые наночастицы при различных режимах фильтрования и сопоставили полученные данные с теоретическими оценками фильтрации наночастиц через волокнистые среды. Наночастицы получали методом электрогидродинамического распыления растворов биологических веществ с нейтрализацией в газовой фазе. Было показано, что эффективность задержания наночастиц как функция линейной скорости потока воздуха через фильтр проходит через минимум при скорости примерно 1-3 м/с. Значительное увеличение эффективности при больших скоростях мы относим за счет деформации фильтра под давлением, в результате чего уменьшается среднее расстояние между наночастицами (ситовый механизм).

Было показано, что при высоких скоростях потока воздуха (до 10 м/с) на фильтре создается давление, достаточное для того, чтобы двукратно уменьшить среднее расстояние между наночастицами при сжатии фильтра. Теоретические оценки фильтрования наночастиц через фильтры с изменением расстояния между наночастицами при росте скорости потока воздуха показали увеличение вклада механизма зацепления и уменьшение вклада диффузионного механизма в эффективность фильтрования.

ПРИМЕНЕНИЕ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ АНАЛИЗА РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ

Монахова В.С.^{1,2}, Сергеева Д.С.^{1,3}, Петров А.В.¹

¹ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург; ²ФГБОУ ВПО Астраханский государственный университет, Астрахань; ³ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

varvara.bio@gmail.com

Определение гетерогенности и стабильности рекомбинантных антител является важным этапом при контроле качества и оптимизации их производства, т.к. изменение состава изоформ белка влияет на биологическую активность получаемого препарата. Оценить степень гетерогенности белка, обнаружить содержащиеся в препарате примеси, а также разделить изоформы, имеющие различную молекулярную массу и изоэлектрические точки возможно с помощью капиллярного гель-электрофореза (КГЭФ) и капиллярного изоэлектрического фокусирования (КИЭФ). Данные методы имеют ряд преимуществ по сравнению с электрофорезом белков в планарных гелях: небольшой расход реактивов, лучшая воспроизводимость результатов, автоматизация методов и отсутствие необходимости работы с токсичными веществами.

Целью нашей работы являлась адаптация коммерческих протоколов КГЭФ и КИЭФ компании «Beckman Coulter» к использованию на отечественном приборе для капиллярного электрофореза «Капель-105 М» для анализа рекомбинантных антител. В ходе работы были оптимизированы параметры проведения анализа, была оценена линейность и воспроизводимость методов.

При проведении капиллярного гель-электрофореза были подобраны наиболее оптимальные параметры для анализа рекомбинантных антител на приборе «Капель-105М». При анализе антител в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях были обнаружены агрегаты и негликозилированные формы белка. Кроме того, был проведен анализ коммерческого маркера молекулярных масс и оценена воспроизводимость метода. При этом величина достоверности аппроксимации составила 0.98-0.99. Коэффициент вариации составил 0.56-0.89% для белков в диапазоне молекулярных масс от 10 до 100 кДа, 2.7-8.7% для белков в диапазоне от 150 до 225 кДа.

Использование метода капиллярного изоэлектрического фокусирования для анализа рекомбинантных антител позволило визуализировать и классифицировать изоформы белков на основные, главные и кислые в зависимости от значений их изоэлектрических точек, рассчитать их процентное содержание в образце. Данные по воспроизводимости и линейности метода согласуются с результатами, приведенными в коммерческом протоколе.

Согласно полученным данным, система капиллярного электрофореза «Капель-105М» может быть успешно использована для анализа рекомбинантных антител с помощью методов капиллярного гель-электрофореза и капиллярного изоэлектрического фокусирования.

МИКРОБНЫЙ ПРЕПАРАТ «ТЭАМИН» ДЛЯ ОЧИСТКИ РАСТВОРОВ ОТ ТРЕТИЧНЫХ АМИНОВ

Нагорный Р.К., Самсонова А.С.

ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

microbiosmu@mail.ru

На современных машиностроительных заводах актуальна проблема очистки воздуха рабочей зоны литейных цехов от триэтиламина (ТЭА) и диметилэтиламина (ДМЭА). Наиболее эффективным методом удаления ЛОС из воздушной среды является абсорбционно-биохимическая очистка. Эффективность процесса, осуществляемого в условиях абсорбционно-биохимических установок (АБХУ) определяется деструктивной активностью микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на носителе в биореакторе. Ранее нами выделены высокоактивные штаммы-деструкторы третичных метил- и этиламинов – *Rhodococcus qingshengii* НСТ-32 и *Rhodococcus jialingiae* НСТ-91, клетки которых активно иммобилизуются на волокнистых носителях. На основе данных штаммов впервые получен микробный препарат «Тэамин», предназначенный для очистки сточных вод и абсорбционных растворов от ТЭА и ДМЭА.

Испытания эффективности препарата «Тэамин» провели в периодических условиях в течение 72 часов при очистке абсорбционного раствора из биореактора АБХУ, функционирующей в литейном цеху ОАО «Минский автомобильный завод». Концентрация ТЭА и ДМЭА в абсорбенте составила 16,4 и 121,3 мг/л, соответственно.

Внесение препарата в абсорбент привело к полной утилизации ТЭА и ДМЭА за 6 и 24 часа, соответственно. Деструкция данных аминов сопровождалась ростом концентрации NH_4^+ в очищаемых образцах с 8,3 до 11,7 мг/л. В течение следующих суток NH_4^+ был полностью утилизирован микроорганизмами, составляющими препарат «Тэамин». Титр клеток микроорганизмов-деструкторов в процессе деструкции ТЭА и ДМЭА увеличился с 1×10^7 до $4,9 \times 10^7$ КОЕ/мл. Полученные результаты свидетельствуют о полной минерализации исследованных ксенобиотиков культурами *Rh. qingshengii* НСТ-32 и *Rh. jialingiae* НСТ-91, составляющие препарат «Тэамин».

Выявленная нами высокая эффективность препарата «Тэамин» позволяет рекомендовать его для использования в очистке сточных вод и абсорбционных растворов от ТЭА и ДМЭА.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ СОСТАВЛЯЮЩИХ В КУЛЬТИВИРОВАННЫХ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ КАРТОФЕЛЯ

**Новикова И.Н., Дрёмин В.В., Рылкова А.С., Светкина П.В., Стельмашук О.А.,
Дунаев А.В., Кузнецова Е.А.**

ФГБОУ ВПО Государственный университет – учебно-научно-производственный
комплекс, Орел, Россия

i.n_novikova@mail.ru

В последние годы для исследования биологических объектов на микроуровне успешно применяется метод флуоресцентной спектроскопии (ФС), позволяющий следить за временной и пространственной динамикой молекулярных процессов. Данный метод основан на анализе характеристик наведенной эндогенной флуоресценции при зондировании биоткани низкоинтенсивным оптическим излучением определенных длин волн. Целью данной работы явилось оценить возможность использования данного метода для определения флуорофоров, содержащихся в каллусных культурах *Solanum Tuberosum*.

Экспериментальные исследования проводились с использованием канала ФС многофункционального комплекса «ЛАКК-М» (ООО НПП «ЛАЗМА», Москва). Возбуждение флуоресценции осуществлялось оптическим излучением УФ (365 нм), синего (450 нм), зеленого (532 нм) и красного (635 нм) диапазонов длин волн.

Всего было исследовано 6 образцов каллусов: 3 образца, выращенные без освещения, и 3 образца с освещением. В результате были получены спектры флуоресценции каждого вида каллусов на четырех длинах волн возбуждения. Измерения проводились на каллусах, находящихся в фазах стационарного и активного роста и в фазе отмирания, выращенных с освещением и без.

Анализ полученных данных показал, что у каллусов, в зависимости от освещенности, наблюдались различия пиков в спектрах флуоресценции. Для повышения информативности зарегистрированных спектров, был проведен расчет коэффициента флуоресцентной контрастности – $k_f(\lambda)$. Применение данного критерия позволяет проводить количественную оценку наличия веществ в диапазоне от 0 до 1, даже в отсутствии возможности вычисления реальной концентрации флуорофоров. Так в каллусах, выращенных при освещении, максимальное значение $k_f(\lambda)$ приходится на длину волны 685 нм, что, как известно, может свидетельствовать о флуоресценции хлорофилла, и в зависимости от стадии роста колеблется в диапазоне 0,4-0,7 отн.ед. Более высокое содержание хлорофилла характерно для каллусов в фазе стационарного роста (0,7 отн. ед.), чем для каллусов, находящихся в фазе активного роста (0,5 отн. ед.). Расчет $k_f(\lambda)$ веществ каллусов, выращенных без освещения, показал отсутствие хлорофилла, однако были выявлены пики флуоресценции в других диапазонах длин волн.

Таким образом, предлагаемая методика может использоваться в биотехнологии для экспресс-анализа содержания различных флуорофоров в каллусах, а также для контроля концентраций данных флуорофоров в зависимости от условий выращивания и воздействия других веществ.

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ БИОСТИМУЛЯТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ПИВНЫХ СЕМЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ

Новоселова А.А., Евдокимова Е.В.

ФГБОУ ВПО Уральский государственный лесотехнический университет,
Екатеринбург, Россия

z53rk9@mail.ru

Целью данной работы является исследование процессов обработки семенных пивных дрожжей, обеспечивающей необходимые физиологические и биологические свойства продуцента. Результаты, полученные нами ранее, показали, что использование серной кислоты для повышения биологической чистоты пивных дрожжей, несмотря на высокую степень гибели бактериальной микрофлоры, имеет следующие недостатки: сложность и многостадийность

обработки; ухудшение органолептических показателей пива за счет остаточного количества серной кислоты; удорожание процесса за счет необходимости использования дополнительного нейтрализующего агента и высококачественной кислоты.

Некоторые недостатки можно устранить при использовании ортофосфорной кислоты. В результате исследования обработки в присутствии ортофосфорной кислоты были получены уравнения регрессии.

$$Y1 = 81,25 + 10,40X1 + 6,25X1X2$$

$$Y2 = 63,24 + 12,54X1 - 5,95X2 + 1,6X1X2,$$

где Y1 – степень гибели бактериальных клеток, % к исходному количеству;

Y2 – содержание мертвых дрожжей, %;

X1 – продолжительности обработки;

X2 – температура.

Результаты показали, что варьируемые факторы при их максимальном значении вызывают гибель бактериальных клеток, близкую к 100%, но в то же время приводят к гибели дрожжевых клеток более 70%, что говорит о необходимости введения стадии стимуляции обработанных дрожжей с целью улучшения их физиологических и биологических характеристик. С этой целью нами изучалась возможность использования природных биостимуляторов, таких как янтарная кислота и экстракт родиолы розовой. Обработанные дрожжи вместе с биостимуляторами заданной концентрации вносились в пивное сусло экстрактивностью 11%. Данные пробы ферментировали в течение 7 сут. Ежедневно пробы анализировали для определения физиологических показателей дрожжей и степени утилизации субстрата и образования этанола. Полученные результаты свидетельствуют об активности данных препаратов.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что для обеззараживания пивных семенных дрожжей рекомендовано использовать 8%-ный раствор ортофосфорной кислоты при температуре 5°C, pH-2,2 в течение 2 ч. Для стимуляции обработанных дрожжей рекомендовано использовать янтарную кислоту в концентрации 0,1% либо экстракт родиолы розовой с концентрацией 2,5%.

СОЗДАНИЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ ЛИНИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Орлова Н.А., Ковнир С.В., Ходак Ю.А., Воробьев И.И.

ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия

nobiol@gmail.com

Терапевтические белки являются одними из самых дорогих и сложных в производстве активных фармацевтических субстанций. Среди достижений современной биотехнологии – переход к производству рекомбинантных терапевтических белков человека в гетерологичных системах.

Культивируемые клетки млекопитающих обеспечивают производство более половины допущенных к клиническому применению терапевтических белков. Промышленные линии продуцентов терапевтических белков должны сочетать высокую удельную продуктивность и стабильность уровня экспрессии в течение 90-120 дней культивирования.

Получение таких линий при помощи существующих плазмидных векторов крайне трудоемко вследствие низкой вероятности интеграции плазмид в транскрипционно активные и генетически стабильные области генома. Нами был разработан специализированный плазмидный вектор p1.1, содержащий нетранслируемые участки гена фактора элонгации трансляции 1a СНО, фрагмент концевого повтора вируса Эпштейна-Барр.

При помощи модельного флуоресцентного белка было установлено, что большинство клеток, стабильно трансфицированных плазидами на основе вектора p1.1, синтезируют большие количества целевого белка и сохраняют постоянный уровень его биосинтеза в течение длительного времени.

Практическая применимость вектора p1.1 подтверждена при получении клонального продуцента фактора свертываемости крови VIII с удельной продуктивностью более 10 мкМЕ/клетка/день и постоянным уровнем секреции в течение 120 дней.

Производные вектора p1.1 применены для создания линий, ко-экспрессирующих гены фактора IX человека, сигнальной протеазы фурин и витамин-К эпоксиредуктазы 1. Отобрана клональная линия-продуцент фактора IX с удельной продуктивностью 2.1 мкг/клетка/день и долей неактивной формы фактора IX менее 3%.

Для создания продуцентов гетеродимерных белков разработан трицистронный вектор, в котором три открытые рамки считывания объединены интактным и аттенуированным внутренними сайтами связывания рибосом вируса энцефаломиокардита. При помощи данного вектора получена линия-продуцент фолликулостимулирующего гормона человека с удельной продуктивностью более 12 пг/клетка/день, секретирующая незначительные количества свободной цепи гормона.

Плазмидный вектор p1.1 и его производные пригодны для быстрого получения промышленных линий-продуцентов большинства классов терапевтических белков.

ПОЛУЧЕНИЕ ГИБРИДНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ ОВЕЧЬЕГО α_2 -ИНТЕРФЕРОНА В КЛЕТКАХ *E. COLI*

Острикова К.В., Потапович М.И., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

kristiost@mail.ru

Интерфероны (ИФН) относятся к классу индуцибельных белков позвоночных и представляют собой гликопротеиды, которые обладают антивирусной, антипролиферативной и иммуномодулирующей активностями. ИФНы широко применяются при лечении различных заболеваний вирусной этиологии у человека и животных. Несмотря на возможность использования ИФН человека для лечения животных, доказано, что аутологичные ИФНы являются более эффективными в отличие от гетерологичных. На сегодняшний день в мире отсутствуют препараты на основе овечьего ИФН.

Ранее в бактериях *E. coli* нами был получен овечий α_2 -ИФН. Оказалось, что рекомбинантный белок в данных бактериях образует нерастворимые тельца включения, что затрудняет получение очищенного продукта. В данной работе для увеличения растворимости целевого продукта и облегчения процесса его очистки нами была предпринята попытка создания химерных белков на основе овечьего α_2 -ИФН.

Целлюлозосвязывающий домен СВМ9-2 может применяться в качестве универсального тэга для аффинной очистки в связи с его специфическим сродством к целлюлозе, которая является дешевым и доступным сорбентом.

Убиквитин-подобный модифицирующий белок (Sumo) повышает экспрессию, способствует правильному фолдингу белка и, тем самым, препятствует формированию телец включения. Кроме того, для придания свойств аффинности к Sumo может быть присоединен гистидиновый «хвост». Такой тэг HisSumo был использован в нашей работе. Использование дополнительной гистидиновой метки на N-конце белка позволяет упростить процедуру очистки с помощью аффинной никель-хелатной хроматографии.

Целью данной работы было получение гибридных рекомбинантных белков СВМ-TEV-ovine α_2 -ИФН и HisSumo-TEV-ovine α_2 -ИФН. Данные химерные белки состоят из овечьего α_2 -ИФН и аффинной метки на N-конце последнего, между меткой и целевым белком нами был введен сайт для узнавания TEV-протеазой, что позволяет при необходимости легко удалить метку.

Описанные конструкции были клонированы в составе экспрессионного вектора в клетках бактерий *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Клоны, несущие рекомбинантные плазмиды, наращивали до ОП₆₀₀=1. В среду добавляли индуктор ИПТГ до конечной концентрации 0,5 ммоль/л и продолжали культивировать бактерии в течение 4 часов при 37°C. ДСН-ПААГ-электрофорез тотальных клеточных белков показал накопление продуктов, по размеру соответствующих белкам СВМ-TEV-ovine α_2 -ИФН (43,5 кДа) и HisSumo-TEV-ovine α_2 -ИФН (33,4 кДа). Таким образом, нами были получены продуценты химерных белков на основе овечьего ИФН.

***CHLORELLA VULGARIS* – ВОЗМОЖНЫЙ ПРОДУЦЕНТ БИОТОПЛИВА III ПОКОЛЕНИЯ**

Перевязка Д.С., Худокормов А.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Карасёва Э.В.
ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

dmitriy_perevyazka@mail.ru

В последнее время микроводоросли вызывают большой интерес с биотехнологической точки зрения как продуценты липидов для производства биодизеля. Продуктивность микроводорослей по липидному показателю превышает таковую таких наземных культур растений как: рапс, соя, подсолнечник и т.д., а продуктивность липидов с 1 га в десятки и даже сотни раз больше, чем у данных культур растений. Немаловажным преимуществом микроводорослей является отсутствие твёрдой оболочки, что технологически делает их переработку в жидкие топлива более простой и эффективной.

В настоящее время микроводоросли культивируют в основном в фотобиореакторах, нами рассматривается возможность их культивирования в открытых водоемах Краснодарского края. Нами был выделен штамм *Chlorella vulgaris*, накапливающий в процессе культивирования до 23% липидов. Данную культуру возможно использовать при производстве биотоплива в открытых водоемах Краснодарского края, а остатки клеток после извлечения липидов служат ценным кормовым сырьем.

Одним из главных параметров для биотехнологического применения данной водоросли является подбор оптимальных условий культивирования, в том числе выбор оптимальной питательной среды, позволяющий получать стабильный и высокий прирост биомассы. Нами было выполнено пробное культивирование, позволяющее оценить скорость роста культуры *Chlorella vulgaris* и величину прироста биомассы. В качестве тестовых использовались наиболее распространенные среды: Пратта, Тамия, Болда, Богданова, Кноппа, Кратца-Майерса.

Наиболее продуктивными оказались среды Богданова – 1 г/л сухой биомассы и Тамия – 0,7 г/л сухой биомассы, остальные среды были менее продуктивными как по приросту биомассы, так и по конечному весовому показателю, который не превышал 0,5 г/л сухой биомассы. Также следует отметить, что скорость роста на среде Богданова была выше, чем на среде Тамия и остальных средах. При содержании $1 \cdot 10^6$ кл/мл в засевной дозе максимальный уровень прироста биомассы на среде Богданова наблюдался на 7-ые сутки, а на среде Тамия на 10-ые сутки.

Ввиду того, что среда Богданова является наиболее простой и состоит из доступных широкому кругу лиц компонентов, эта среда рекомендована нами для дальнейшей оптимизации при изучении возможности культивирования штамма в искусственных открытых водоемах Краснодарского края.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ЛИПИД-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ШТАММОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ, КАК СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТОПЛИВА, ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СТОЧНЫХ ВОДАХ ПИВОВАРЕННЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Пилигаев А.В.^{1,2}, Самойлова Ю.В.¹, Сорокина К.Н.^{1,2}

¹ФГБУН Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, ²ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

piligaev@catalysis.ru

В настоящее время биомассу микроводорослей рассматривают как перспективный источник сырья для получения биотоплива. Также микроводоросли при культивировании обладают способностью с высокой эффективностью удалять из воды соединения азота, фосфора и углерода. В связи с этим микроводоросли представляют интерес в разработке комбинированных процессов получения высокоэнергетической биомассы и очистки сточных вод.

Целью данной работы являлось исследование свойств липид-продуцирующих штаммов микроводорослей при культивировании на сточных водах пивоваренного производства для получения высокоэнергетической биомассы с высоким содержанием липидов.

В работе был проведен скрининг штаммов микроводорослей, выделенных из природных источников, на способность к росту на средах, имитирующих по составу сточные воды пивоваренного производства. Было установлено, что гетеротрофным ростом на среде, имитирующей отходы пивоваренного производства, из 24 исследованных штаммов обладали 8 штаммов, относящихся к родам *Chlorella*, *Scenedesmus* и *Nannochloris*. Из них, по результатам сравнительного анализа липидного содержания путем измерения интенсивности флуоресценции после окрашивания красителем Nile Red, было выбрано 3 штамма с наибольшим содержанием нейтральных липидов в клетках. Выбранные штаммы были использованы для наработки биомассы и анализа степени очистки среды по показателю химического потребления кислорода (ХПК), имитирующей отходы пивоваренного производства.

Показано, что содержание липидов у всех исследованных штаммов составляет 33-48% от сухого веса, а основными жирными кислотами липидов являются C16:0, C18:0 и C18:1. При этом из всех исследованных штаммов, штамм *Chlorella vulgaris* A-1123 обладает наибольшей степенью очистки сточных вод (до 45,8%), при этом обладает наибольшей продуктивностью по биомассе $56,4 \pm 0,3$ мг·Л⁻¹·день⁻¹ при содержании липидов $35,8 \pm 0,2\%$ от сухого веса.

Таким образом, выделенный штамм является перспективным кандидатом для получения биотоплива высокого качества. Однако показатель ХПК после культивирования всех исследованных штаммов превышает установленные допустимые значения для сброса в окружающую среду. Поэтому выбранный штамм, вероятно, будет эффективно применен для вторичной и третичной переработки сточных вод в совокупности с другими методами очистки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №14-08-31589 мол_а).

УСТОЙЧИВОСТЬ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCLUS* К ВОЗДЕЙСТВИЮ ГИДРОФИЛЬНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Писцова О.Н.¹, Коршунова И.О.¹, Куюкина М.С.^{1,2}, Ившина И.Б.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет; ²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

pistsova@gmail.com

Широко применяемые в биокатализе гидрофильные органические растворители ($\log P_{O/W} < 1$) высокотоксичны, они нарушают клеточные мембраны микроорганизмов и физиологические процессы в клетках. Актинобактерии рода *Rhodococcus* способны к биотрансформации широкого спектра органических соединений и обладают высокой устойчивостью к углеводородам.

Цель работы – изучение чувствительности родококков к воздействию органических растворителей и поиск резистентных штаммов.

Исследованы 28 культур, принадлежащих к видам *R. erythropolis*, *R. fascians*, '*R. longus*', *R. opacus*, *R. rhodochrous*, *R. ruber*, из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WDCM # 768; www.iegm.ru/iegmcol). Использовали изобутанол, бутанол-1, этилацетат, ацетон, этанол, ацетонитрил ($\log P_{O/W}$ от $-0,33$ до $0,81$) в концентрации 20–80%. Жизнеспособность бактерий определяли методом окрашивания йодонитротетразолия хлоридом, измеряя ОП₆₂₀ окрашенной суспензии на микропланшетном фотометре Multiscan Ascent. Морфологические особенности устойчивых штаммов исследовали с помощью совмещенной атомно-силовой и конфокальной микроскопии (АСМ/КЛМ).

По степени токсичности для родококков тестируемые растворители распределились в ряду: бутанол-1 > изобутанол, этилацетат > ацетон, ацетонитрил > этанол. Исследованные родококки по степени устойчивости к гидрофильным растворителям находятся в ряду: '*R. longus*' > *R. ruber* > *R. opacus* > *R. fascians* > *R. rhodochrous* > *R. erythropolis* однако четкой видовой специфичности по данному признаку не обнаружено. При этом жизнеспособность большинства культур составляла от 5 до 50% в зависимости от концентрации растворителей. Выявлен штамм *R. opacus* ИЭГМ 57, характеризующийся стабильным (60%) показателем жизнеспособности в

присутствии 20-80% растворителей. Отобраны высокоустойчивые культуры *R. rhodochrous* ИЭГМ 66, *R. rhodochrous* ИЭГМ 647, '*R. longus*' ИЭГМ 69 и '*R. longus*' ИЭГМ 32, способные к росту в парах этанола, при 80% изобутанола, этилацетата, ацетона и ацетонитрила. Комбинированное АСМ/КЛМ сканирование выявило адаптивные изменения размера, отношения площади поверхности к объему и нанорельефа устойчивых к действию растворителей клеток родококков.

Отобранные штаммы перспективны для осуществления направленных трансформаций гидрофобных органических соединений в биокатализе.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 14-14-00643.

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АЛКАЛОФИЛЬНЫХ И АЛКАЛОТОЛЕРАНТНЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

**Покровская Ю.С.¹, Кудрявцева О.А.¹, Биланенко Е.Н.¹, Дунаевский Я.Е.²,
Кураков А.В.¹**

¹ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова; ²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

ofbirta@gmail.com

Протеазы представляют одну из трех крупнейших групп промышленно важных ферментов. Они широко применяются в пищевой и легкой промышленности, в медицине и фундаментальных исследованиях. Особый интерес в настоящее время представляют протеазы экстремофильных грибов, в частности, алкалофильных и алкалотолерантных, ввиду их активности и стабильности в щелочном диапазоне рН.

Целью настоящего исследования была оценка протеолитической активности у алкалофильных и алкалотолерантных микроскопических грибов.

Изучали 12 штаммов микромицетов 6 видов – *Sodiomyces alkalinus*, *S. magadii*, *Chordomyces antarcticum*, *Acrostalagmus luteoalbus*, *Verticillium zaregamsianum*, *Gibellulopsis nigrescens*, выделенных из щелочных содовых грунтов и почв. Все они по характеру роста – алкалофильные или алкалотолерантные грибы.

Мицелий предварительно культивировали на чашках Петри на щелочном мальт-агаре в течение 7-10 дней, затем пересевали на ферментационную среду (рН 10,2), содержащую сусло Maltax10, бикарбонатный буфер, минеральные соли и казеин. Общая протеолитическая активность и спектр внеклеточных протеаз измерялись по азоказеину и специфическим синтетическим пара-нитроанилидным субстратам: GlpAALpNA, GlpFpNA, BzRpNA, GlpFApNA – для эндопептидаз; LpNA, L-Phenylalanine-4-nitroanilide, L-Glutamic acid 1-(4-nitroanilide) – для аминопептидаз; также использовали ЭДТА – ингибитор металлопротеаз. Измерения проводили в культуральной жидкости на 7 сутки при рН 9,5.

Общую протеолитическую активность в щелочных условиях проявили 11 из 12 культур, за исключением *S. magadii*. Она заметно варьировала среди штаммов одного вида, что особенно было выражено у изолятов *V. zaregamsianum* и *C. antarcticum*, у которого та же закономерность прослеживалась и с работой металлопротеаз. У исследованных штаммов обнаружено два типа аминопептидазной активности. Наибольшая активность проявлялась по субстрату LpNA, по субстрату L-Phenylalanine-4-nitroanilide активность была значительно ниже. У изученных культур этих грибов незначительно проявлялась или отсутствовала активность трипсиноподобных, субтилизиноподобных и химотрипсиноподобных сериновых протеиназ. У 50% штаммов установлена активность субтилизиноподобных сериновых протеиназ. Впервые у 3-х штаммов грибов этой эколого-трофической группы обнаружена активность цистеиновых протеиназ.

Выявлено несколько штаммов с высокой субтилизинподобной, аминопептидазной и общей протеолитической активностями, а также активностью цистеиновых протеиназ, среди которых перспективно вести поиск биокатализаторов с новыми свойствами.

ПРИМЕНЕНИЕ ХЕЛАТА КРЕМНИЯ И СИЛИКАТА НАТРИЯ В ТЕХНОЛОГИИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО КАРТОФЕЛЯ

Полякова М.Н., Хабарова Л.Н., Пастухов С.А.

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА им.

К.А. Тимирязева, Москва, Россия

lyudmila.khabarova48@gmail.com

Картофель – одна из основных культур, возделываемых в растениеводстве. Важнейшим звеном современной индустрии картофеля является хорошо налаженная система семеноводства. Согласно схеме последовательных этапов семеноводства картофеля, цепочка производства начинается с *in vitro* материала, и именно эти растения, выращенные в пробирках, должны закладывать уверенный старт для успешного прохождения остальных этапов семеноводства.

Известно, что устойчивость всех организмов в той или иной степени зависит от устойчивости клеточных мембран. Кремний присутствует в волокнах механических тканей всех растений и придает прочность цитоскелету. Широко используемые в биотехнологии агаризованные питательные среды для выращивания растений не содержат в своем составе источников кремния. Все вышесказанное создает перспективные предпосылки для использования кремния в технологии *in vitro*.

Целью работы является: изучение влияния кремния в составе питательной среды Мурасиге и Скуга (MS) на микрорастения картофеля.

В задачи исследования входит:

- подбор оптимальных концентраций источников кремния;
- изучение влияния источников кремния на морфофизиологические параметры пробирочных растений картофеля;
- изучение последствий источников кремния – оценка морфофизиологических параметров, продуктивности растений картофеля в условиях закрытого грунта;
- оценка роста, развития и продуктивности растений в условиях открытого грунта, выращенных по рассадной технологии.

Была проведена серия предварительных опытов по подбору концентраций и источников кремния на группе перспективных сортов картофеля. В результате не было выявлено ингибирующего воздействия.

В качестве источников кремния был выбран экспериментальный препарат – хелат кремния ЭДТА, любезно предоставленный ГК «Элитные Агросистемы» и силикат натрия, широко известный как «натриевое жидкое стекло».

Для изучения воздействия различных источников кремния на рост и развитие в условиях *in vitro* закладывали лабораторный опыт по следующей схеме:

Варианты: 1. Контроль (MS); 2. MS + 3 мл/л хелат кремния (39 мг/л SiO₂); 3. MS + 3 мл/л силикат натрия (39 мг/л SiO₂); 4. MS + 30 мл/л хелат кремния (390 мг/л SiO₂). Материалом исследования служили растения-регенеранты раннего сорта Ред Скарлет.

В результате проведенного опыта было выявлено, что есть существенные различия между вариантами. Показано, что добавление кремния в питательную среду стимулирует рост и образование узлов у микрорастений картофеля в культуре *in vitro*.

ВЛИЯНИЕ КРАХМАЛА НА БИОСИНТЕЗ ТАКРОЛИМУСА (FK-506)

ШТАММОМ *STREPTOMYCES TSUKUBAENSIS* ВКМ Ac-2618Д

Пошехонцева В.Ю.^{1,2}, Гулевская С.А.¹, Суходольская Г.В.^{1,3}, Фокина В.В.^{1,3}

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

²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт;

³ООО «Фарминс»

rikahameleon@mail.ru

Такролимус (FK-506) – природный макроциклический поликетид, современный иммуносупрессорный агент, широко использующийся в медицинской практике: в трансплантологии, дерматологии, офтальмологии, терапии аутоиммунных заболеваний и т.д.

Известные на сегодняшний день продуценты такролимуса (около 20 штаммов) принадлежат к роду *Streptomyces*. Биосинтетическая способность большинства из них достаточно низка, и актуальными задачами остаются поиск новых высокоактивных штаммов и повышения эффективности биосинтеза.

Штамм *S. tsukubaensis* ВКМ Ас-2618Д способен синтезировать такролимус при росте на сложных питательных средах, содержащих в качестве источника углерода крахмал.

В настоящей работе исследовали влияние концентрации, вида, типа, растворимости и способов внесения крахмала на биосинтез такролимуса штаммом *S. tsukubaensis* ВКМ Ас-2618Д.

Биосинтез такролимуса штаммом *S. tsukubaensis* ВКМ Ас-2618Д проводили на роторной качалке (200 об/мин) в течение 10 суток при 24°C. Посевной материал выращивали в два этапа. Анализ накапливающегося в среде такролимуса проводили ВЭЖХ.

Установлено, что использование растворимого картофельного крахмала является более предпочтительным в сравнении с крахмалами других видов – кукурузного, тапиокового, горохового и др. При этом максимальный выход такролимуса был достигнут при использовании картофельных крахмалов от компаний «Сигма» (США) и ООО «Химприбор» (РФ). Зависимость продукции такролимуса от источника крахмала и его качества ранее отмечалась в литературе. При увеличении концентрации вносимого крахмала от 25 до 90 г/л выход такролимуса увеличивался в 5 раз. Замена крахмала другими источниками углерода (моно- и дисахарами, органическими кислотами, декстринами и др.) приводила к значительному снижению целевой биосинтетической активности. При порционном внесении крахмала в питательную среду содержание такролимуса увеличивалось до 530 мг/л.

Результаты могут быть использованы при создании технологии биосинтеза такролимуса.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО РЕАГЕНТА ИЗ ГРУППЫ ХИНАЗОЛИЛ-ФОРМАЗАНОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛОКАЛИЗАЦИИ МЕДИ И ЦИНКА В КЛЕТКАХ КАЛЛУСОВ КАРТОФЕЛЯ

Рылкова А.С., Светкина П.В., Кузнецова Е.А.

ФГБОУ ВПО Государственный университет – учебно-научно-производственный
комплекс, Орел, Россия

anna.rylkova.94@mail.ru

Гистохимические методы определения металлов основаны на образовании окрашенных комплексов аналитических реагентов с изучаемыми химическими элементами. Для выявления локализации тяжелых металлов широко используются комплексообразователи формазанового ряда, дающие окрашенные комплексы при комнатной температуре в водно-органических растворителях с достаточно хорошей избирательностью.

Материал клеток картофеля культивировали в чашках Петри на поверхности модифицированной агаризованной питательной среды Мурасиге-Скуга при температуре 20-22°C. Чашки Петри выдерживали при 24-часовом фотопериоде. Длительность пассажа составляла 28 дней. Для исследования брали средние пробы культивируемых *in vitro* клеток.

Целью исследования было изучение возможности использования комплексов формазанов с Cu^{2+} и Zn^{2+} для обнаружения металла в каллусных культурах гистохимическим методом и определения мест его локализации. Предварительно были синтезированы модельные лиганды хиनाзолил-формазанового ряда с электронодонорными и электроноакцепторными заместителями в фенильном кольце у N_5 формазанового цикла, характерными для биологических структур. На среде Мурасиге-Скуга *in vitro* были выращены каллусные культуры картофеля. Препараты исследовали с помощью микроскопа Axioskop 2 MAT фирмы «Carl Zeiss» методом контрастирования в светлом поле.

После обработки серии поперечных срезов каллусных культур водно-спиртовым раствором, содержащим формазаны, под микроскопом наблюдали следующую картину распределения тяжелых металлов к каллусной ткани: ионы Cu^{2+} в клетках каллусов распределены равномерно, присутствуют в цитоплазме, клеточной оболочке. Локализация ионов Zn^{2+} наблюдается в основном в клеточных стенках каллусных культур.

Таким образом, проведенные исследования показали, что синтезированные комплексы хиназолил-формазанового ряда могут быть использованы для исследования распределения

ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} в каллусных культурах картофеля. Синтезированные формазаны являются селективными аналитическими реагентами для обнаружения металлов в тканях и клетках растений.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ КОЛЛАГЕНОВЫХ БАРЬЕРНЫХ МЕМБРАН НА ОСНОВЕ ДОНОРСКИХ КСЕНОГЕННЫХ МАТРИЦ

Рябов А.Ю.¹, Фадеева И.С.^{2,3}, Вежнина Н.О.², Горбачев Д.П.^{2,3}, Фадеев Р.С.^{2,3}, Фесенко Н.И.³, Лекишвили М.В.⁴, Акатов В.С.^{2,3}

¹Стоматологический центр «Интердентос», Королёв; ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ³ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино; ⁴ФГБУ Центральный НИИ травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова МЗ РФ, Москва, Россия

aurin.fad@gmail.com

В современной челюстно-лицевой хирургии и стоматологии использование биорезорбируемых мембран на основе донорских матриц уверенно занимает лидирующие позиции. Это связано, прежде всего, с высокой доступностью первичного ксеноматериала, отсутствием необходимости повторных операций с целью удаления мембраны (как в случае использования синтетических нерезорбируемых мембран), а также с наличием собственного индуктивного потенциала и возможностью дополнительной модификации мембран с целью увеличения первичного регенеративного потенциала. Основными показателями надежности барьерной мембраны являются – известное время резорбции биоматрицы (продолжительность ее барьерной функции), отсутствие токсического/антигенного влияния на окружающие ткани, отсутствие отрицательного влияния мембраны на структуру контактных мягких тканей (десны), возможность надежной стабилизации мембраны в ране, а также удобство для оперирующего хирурга (биомеханические характеристики).

Исходя из указанных выше требований на базе ЦИТО им. Н.Н. Приорова были получены барьерные мембраны на основе ксеногенных тканей (перикарда (М-П), диафрагмы (М-Д) и твердой мозговой оболочки (М-ТМО) половозрелого быка).

Целью данной работы стало проведение экспериментальной и морфологической оценки биологических барьерных мембран М-П, М-Д, М-ТМО с целью определения степени их иммуногенности, времени биодеградации (окончания барьерной функции), а также определения потенциала дополнительной модификации мембран для селективного увеличения барьерной, каркасной, биологически активной или антисептической функции.

Исследование биосовместимости проведено в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 10993-6-2011. Исследование в динамике проводили на сроках 30, 45 и 70 сут. После эксплантации материалы подвергались комплексному гистологическому (стандартные окраски) и иммуногистохимическому (а/т CD4+, CD68, α -ГМА) анализу, а также дополнительно исследовалась степень минерализации образцов (тест Calcium AS FS, Arsenazo III) методом адсорбционной спектроскопии.

Было установлено, что все исследуемые материалы биосовместимы и выполняют искомую барьерную функцию. Минимальным сроком резорбции (к 30 сут. – 80%) обладает материал М-ТМО; также этот материал имеет самую низкую степень минерализации (к 45 сут. – $0,94 \pm 0,61$ мкг/мг сух. веса ткани), низкие показатели клеточной инфильтрации и ангиогенеза (к 70 сут. – $8,9 \pm 4,6$ сосудов в п.з.). Максимальными значениями по указанным критериям обладает материал М-П: сохранение структуры (резорбция к 70 сут. $\leq 12\%$), средними показателями клеточной инфильтрации, минимальной степенью ангиогенеза ($3,3 \pm 0,8$ с./п.з.) и ранним началом минерализация (к 30 сут.), к моменту эксплантации показавшей формирование пограничной ectopic костной пластинки (условный остеоиндуктивный эффект).

По результатам работы для каждого вида материала определена область назначения и выбран спектр модуляторов. Полученные результаты позволили перейти к следующей фазе биологических испытаний. Работа проведена при поддержке Стипендиального гранта Президента РФ (Грант №СП-6867.2013.4, СП-1519.2015.4), Гранта РФФИ (№14-04-32191), ГЗ ВУЗу (Проект №768), а также Программы «ФИМТ» Президиума РАН.

РАЗРАБОТКА БИОКАТАЛИЗАТОРА ДЛЯ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

Самойлова Ю.В.¹, Пилигаев А.В.¹, Сорокина К.Н.^{1,2}

¹ФГБУН Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, ²ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

samoylova.jv@catalysis.ru

В последние два десятилетия высокими темпами растет роль биотехнологий в различных промышленных производствах. Липазы являются одними из ключевых промышленных ферментов, которые катализируют расщепление сложноэфирных связей в молекулах триглицеридов. Наибольшее применение иммобилизованные липазы нашли в качестве биокатализаторов реакции переэтерификации масел и жиров, которая является основным процессом модификации пищевых жиров (получение основ маргаринов, заменителей масла какао, жиров специального назначения и др.). Существенным недостатком применяемых липаз является снижение их активности вследствие низкой термостабильности, что приводит к быстрой инактивации биокатализаторов в процессе эксплуатации. Решение этой задачи идет как по поиску новых продуцентов липаз, так и по разработке рекомбинантных термостабильных липаз.

В данной работе был получен биокатализатор на основе рекомбинантной термостабильной липазы *Geobacillus stearothermophilus* G3 (предоставлена ИЦиГ СО РАН). Биокатализатор получен методом ковалентной иммобилизации липазы на модифицированном 3-аминопропилтриэтоксисиланом силикагеле. Свойства биокатализатора исследованы в реакции переэтерификации подсолнечного и гидрированного подсолнечного масел в различных условиях: температуры и времени реакции, загрузки катализатора и состава сырьевой смеси. Показано, что в процессе переэтерификации подсолнечного и гидрированным подсолнечным маслом в статическом режиме при соотношении 3:1 наибольшая переэтерификация достигается при использовании 10% биокатализатора, температуры реакции 70°C в течение 2 ч.

Полученный биокатализатор показал высокую стабильность в реакционной смеси: он сохранял свыше 50% от первоначальной активности в течение 121 ч, что делает его перспективным для использования в производстве компонентов пищевых жиров (маргаринов, жиров специального назначения).

Работа выполнена при поддержке проекта базового бюджетного финансирования №V.46.4.4.

ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНЫХ ФОРМ ГЛЮКОАМИЛАЗЫ ГРИБА *ASPERGILLUS AWAMORY X100* МЕТОДАМИ НАПРАВЛЕННОЙ ЭВОЛЮЦИИ

Соболева Е.В.¹, Шмидт А.Е.², Сергеев В.Р.¹, Глазунов Е.А.², Суржик М.А.²

¹ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,

Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций; ²ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Санкт-Петербург, Россия

surgik@yandex.ru

Глюкоамилаза (КФ 3.2.1.3. 1,4- α -D глюкан-глюкогидролаза, ГА) из гриба *Aspergillus awamory X100* катализирует гидролиз α 1-4 гликозидных связей с отщеплением глюкозных остатков с нередуцирующих концов крахмала, гликогена, мальтоолигосахаридов. Фермент имеет оптимальную активность в интервале температур 55 – 60°C.

Глюкоамилазу широко используют при промышленном производстве биоэтанола и глюкозодержащих сиропов. Данный процесс включает в себя несколько стадий ферментативного гидролиза крахмала. На первой стадии этого процесса, когда происходит ожигение начального субстрата, термостабильная α -амилаза гидролизует крахмал до мальтоолигосахаридов при температурах 95-105°C. Используемая в настоящее время глюкоамилаза при температурах выше 60°C необратимо инактивируется, что вынуждает производителей вводить дополнительный этап охлаждения промежуточного продукта до

требуемых более низких температур. В связи с этим получение высокоактивной термостабильной глюкоамилазы позволит осуществлять одностадийный комбинированный гидролиз крахмала, что приведет к значительному уменьшению себестоимости конечных продуктов.

Целью работы являлось получение в клетках *Pichia pastoris* рекомбинантных форм глюкоамилазы, обладающих высокой каталитической активностью и повышенной термостабильностью по сравнению с белком дикого типа.

В настоящей работе был проведен случайный мутагенез части гена ГА, кодирующей каталитический домен, методом ошибочной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Продукты ПЦР были заклонированы в новую эписомную плазмиду рРЕНα, сконструированную сотрудниками ОМРБ ПИЯФ, и экспрессированы в клетках GS115 *Pichia pastoris*. В результате скрининга 1500 дрожжевых клонов было отобрано 6 клонов, которые экспрессировали ГА с повышенной термостабильностью. Данные мутантные формы были выделены и очищены, для каждой из них были измерены константы инактивации при 72 и 75°C. Результаты измерений подтвердили, что у всех отобранных белков скорость инактивации при этих температурах была значительно ниже, чем у белка дикого типа, что свидетельствует об их повышенной термостабильности.

В дальнейшем планируется идентифицировать полученные мутации с помощью секвенирования. Также будут измерены константы инактивации в более широком диапазоне температур и рассчитаны термодинамические параметры. Полученные данные позволят прояснить влияние образовавшихся мутаций на термостабильность ГА. С помощью гомологической рекомбинации и скрининга из полученных мутаций будет создан наиболее термостабильный вариант.

ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО В СОСТАВЕ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ В *E. COLI*

Совгир Н.В., Нагорная А.А., Янушкевич Д.М., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

sovgirnv@inbox.ru

Антимикробные пептиды (АМП) являются перспективными противоионфекционными агентами, однако получение рекомбинантных АМП сопряжено с рядом проблем, решить которые можно путем выбора оптимальных белков-партнеров. Целью данной работы является изучение экспрессии АМП эскулентина и его производного, сшитых с аффинными метками для повышения стабильности и упрощения очистки АМП.

Катионные пептиды эскулентин-1b (Esc-1b) и эскулентин-1a относятся к семейству АМП эскулентина-1 прудовой лягушки (*Rana esculenta*). Оба пептида обладают одинаковым зарядом молекул (+5) при нейтральных значениях pH, состоят из 46 аминокислот и содержат семичленное C-терминальное кольцо («Rana box»), стабилизируемое дисульфидным мостиком. Эскулентин 1-21 (Esc(1-21)) состоит из первых 20 аминокислот эскулентина-1a и дополнительного остатка глицина. Кроме размера и отсутствия «Rana box», Esc(1-21) отличается от Esc-1b аминокислотными заменами лейцина на изолейцин (Leu-11Ile) и аспарагина на глицин (Asp-21Gly).

В качестве N-концевых аффинных белков-партнеров для АМП выступали малый убиквитин-подобный модификатор (small ubiquitin-related modifier, SUMO) из *Saccharomyces cerevisiae* и углевод-связывающий модуль (carbohydrate binding module, CBM9-2) из *Thermotoga maritima*. Белок SUMO на N-конце снабжен аффинной полигистидиновой меткой (6xHis-SUMO), а CBM9-2 сам выступает аффинной меткой, селективно связываясь с целлюлозными сорбентами. Между белками-партнерами и АМП находится сайт узнавания для TEV протеазы. Были разработаны следующие конструкции: 6xHis-SUMO-TEV-Esc-1b, 6xHis-SUMO-TEV-Esc(1-21), CBM9-2-TEV-Esc-1b и CBM9-2-TEV-Esc(1-21).

Все описанные конструкции клонированы в составе вектора для экспрессии pET24b(+) в клетках бактерий *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Индукцию экспрессии проводили 0,5 мМ ИПТГ при 37 С в течение 4 часов. По результатам проведенного SDS/PAGE электрофореза суммарных клеточных белков *E. coli* экспрессия фьюжн-белка 6xHis-SUMO-Esc-1b (19,4 кДа)

отсутствовала, но зафиксирован низкий уровень таковой для белка SVM9-2-TEV-Esc-1b (29,6 кДа). В то же время установлено эффективное внутриклеточное накопление белков bхHis-SUMO-Esc(1-21) (16,7 кДа) и SVM9-2-TEV-Esc(1-21) (26,8 кДа).

Полученные данные позволяют предположить, что наличие в молекуле Esc-1b C-концевого фрагмента длиной 20-25 аминокислот, не обладающего по литературным данным антимикробной активностью, является критичным для его экспрессии в *E.coli*. Это может быть обусловлено тем, что именно в этой области находится некий сигнал деградации Esc-1b.

ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АЗОТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У ДРОЖЖЕЙ *PICHTIA PASTORIS*

Соловьев Г.А., Румянцев А.М., Самбук Е.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

greansa@gmail.com

Важной задачей современной биотехнологии является поддержание баланса между уровнем экспрессии гетерологичного гена и жизнеспособностью клеток продуцентов. Ее решение требует знания тонких механизмов регуляции метаболизма основных биогенных элементов. При синтезе рекомбинантных белков с помощью дрожжей *P. pastoris* применяются двустадийные схемы культивирования. При этом используются различные источники углерода: глицерин для наращивания биомассы клеток и метанол для индукции синтеза рекомбинантного белка. Другим важным фактором является тип используемого источника азота. Глутамин, глутамат и соли аммония являются предпочтительными источниками азота для большинства дрожжей. Но если такие богатые источники азота не доступны, то клетки используют менее предпочтительные источники, такие как пролин и мочевины.

Адаптация микроорганизмов к изменению условий среды происходит, в значительной степени, на транскрипционном уровне. При этом гены, кодирующие ключевые ферменты метаболических путей, как правило, способны изменять уровень экспрессии в ответ на дефицит нескольких биогенных элементов. Задачей нашей работы являлось изучение экспрессии генов азотного метаболизма дрожжей *P. pastoris* в зависимости от типа источника углерода в среде.

В качестве мишеней были выбраны гены *GDH1* и *GDH2*. Ген *GDH1* кодирует НАДФ⁺-зависимую глутаматдегидрогеназу, которая осуществляет синтез глутамата из аммония и α-кетоглутарата. Продукт гена *GDH2* осуществляет обратный процесс, расщепляя глутамат на аммоний и α-кетоглутарат. Культуры клеток *P. pastoris* выращивались в средах с глицерином или метанолом в качестве источника углерода. Сульфат аммония и пролин использовались в качестве источников азота, как по отдельности, так и в смеси. После 13 часов культивирования проводили выделение тотальной РНК. Далее кДНК, полученную методом обратной транскрипции, использовали для постановки ПЦР в режиме реального времени. В качестве референсного гена использовали ген *ACT1*.

Было выявлено, что уровни экспрессии ряда генов метаболизма азота различаются на средах с различными источниками углерода. В частности, на средах с метанолом наблюдалась репрессия гена *GDH1* в присутствии пролина, тогда как на средах с глицерином подобный эффект не обнаружен. С другой стороны, экспрессия гена *GHD2* не зависела от типа источника углерода в среде.

Полученные результаты позволят оптимизировать условия культивирования дрожжей *P. pastoris* – продуцентов гетерологичных белков.

РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА КОНТРАСТИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Суббот А.М., Фёдоров А.А., Грибоедова И.Г.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт глазных болезней, Москва, Россия

kletkagb@gmail.com

Актуальность. Пробоподготовка для электронной микроскопии – это традиционно весьма трудоемкий и многоступенчатый процесс, что снижает доступность этого метода исследования.

Цель. Разработать методику контрастирования нативных тканей для исследования клеточной структуры в обратно-рассеянных электронах на СЭМ без напыления и предварительного обезвоживания.

Задачи:

Изучение участия различных солей тяжелых катионов в обменных процессах клетки по литературным данным;

Выбор оптимальной группы веществ, катионы которых способны накапливаться на биологических мембранах без существенного изменения клеточной структуры;

Разработка протокола препарации биологических образцов;

Подбор оптимальных режимов исследования на СЭМ;

Материалы и методы. В качестве биологических образцов использовались:

интактная конъюнктура кадаверного глаза;

культура конъюнктивального эпителия, полученная методом экспланта.

В качестве контрастирующего агента использовали раствор хлорида редкоземельного металла – неодима. После выдержки в контрастирующем веществе, пробу отмывали избытком дистиллированной воды и переносили на углеродный скотч для последующей съемки. Съемка проводилась на сканирующем электронном микроскопе EVO LS – 10 (Carl Zeiss) с ЭДС Oxford MAX 50, режим низкого вакуума 70-80 Па, ускоряющее напряжение 20 kV.

Результаты. Обоснован выбор хлорида неодима для контрастирования биологических образцов, как нейтральной соли, имеющей катион с высоким атомным номером, обладающей умеренной токсичностью, блокирующей кальциевые насосы и каналы и тем самым фиксирующейся в определенных внутриклеточных структурах;

Разработан протокол препарации биологических тканей (оптимальная навеска «красящего» вещества, время выдержки образца в растворе и т.д.);

Подобраны и опробованы оптимальные режимы исследования на СЭМ;

Подана заявка на изобретение: RU 2014143965 от 12.11.2014 «Способ подготовки биологической ткани к сканирующей электронной микроскопии».

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ГЕНА ГКСФ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ РЯСКИ МАЛОЙ (*LEMNA MINOR L.*)

**Тарасенко И.В.¹, Фирсов А.П.¹, Аликина О.В.^{1,2}, Митюшкина Т.Ю.¹,
Долгов С.В.¹**

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ²ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

irina_tarassenko@rambler.ru

Применение методов генной инженерии для производства лекарственных средств, или биофарминг, стало одним из приоритетных направлений развития современной биотехнологии. Ряска малая (*Lemna minor L.*) рассматривается как перспективный объект для биофарминга, чему способствует высокая скорость роста (время удвоения биомассы от 36 часов) и высокое содержание белка (до 45% от сырой массы).

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ) человека – это О-гликозилированный гликопротеин, массой 19,6 кДа, проявляющий биологическую активность в мономерной форме. Препараты на основе рекомбинантного ГКСФ человека стимулируют увеличение содержания в крови нейтрофильных гранулоцитов и используются при лечении рака, а также при трансплантации костного мозга. В настоящее время человеческий рекомбинантный ГКСФ производится в *E.coli* и не гликозилирован. Растительные

экспрессионные системы позволят решить эту проблему и получать полноценный гликозилированный белок.

Целью нашей работы являлось изучение экспрессии гена ГКСФ в трансгенных растениях ряски малой (*Lemna minor* L). Аминокислотная последовательность ГКСФ была получена из базы данных DrugBank (DB00099). Дизайн наборов перекрывающихся олигонуклеотидов выполнен при использовании программы «Primo Optimum 3.6 Optimal Gene Synthesis And Expression». Сборка синтетических олигонуклеотидов осуществлялась методом ПЦР. Полученная нуклеотидная последовательность с оптимизированным кодонным составом была клонирована в растительном экспрессионный векторе pBI121 под контролем 35S CaMV промотора. Плазмида, обозначенная как pBIGCSF, была перенесена в штамм *A. tumefaciens* CBE21. В результате агробактериальной трансформации растений ряски малой (*Lemna minor* L) было получено 50 независимых линий трансгенных растений. Иммуноферментный анализ полученных трансгенных растений ряски показал экспрессию ГКСФ в 4 линиях из 10.

Работа была выполнена с использованием уникальной научной установки «ФИТОТРОН» (рег. №2-2.9).

РАСТЕНИЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* С ИНТЕГРИРОВАННЫМ ГЕНОМ МИКРОБНОЙ ФИТАЗЫ

Трошагина Д.С.

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

dashunka_@mail.ru

Фосфор является ключевым компонентом различных биомолекул, соединения которого играют важнейшую роль в регуляции сети метаболических путей, протекающих в живых организмах. Животные получают фосфор с пищей, растения и почвенные микроорганизмы непосредственно из почвы. Однако растения не способны удовлетворить свои потребности в фосфоре, поскольку большая его часть находится в труднодоступной органической форме – фитатов. Растительные организмы не могут самостоятельно расщеплять это соединение до легко усвояемых остатков фосфорной кислоты и миоинозитола. Такой способностью обладают почвенные микроорганизмы, в частности, бактерии и микромицеты, которые синтезируют внеклеточные ферменты фитазы для гидролиза фитата и утилизации почвенного фосфора.

Проблема дефицита доступного фосфора в почве становится все более актуальной. Один из путей решения этой проблемы – разработка и внедрение новых биотехнологий, в частности, получение трансгенных растений, несущих ген фитазы бактериального происхождения.

Целью работы явилось получение трансгенных растений *Arabidopsis thaliana*, содержащих ген фитазы бактерии *Pantoea agglomerans* (*paPhyC*) под контролем вирусного промотора *CaMV 35S*.

Растения трансформировали рекомбинантными бактериями *Agrobacterium tumefaciens* GV3101, несущими ген *paPhyC*, ген устойчивости к селективному гербициду BASTA, сигнальную последовательность гена экстенсина *ex*, *His-Strep-tag* последовательности и вирусный промотор *CaMV 35S*. Нами получены линии растений с единичной копией гена, что подтверждено с помощью ПЦР с использованием праймеров к гену фитазы. Экспрессию модифицированного гена *paPhyC* на транскрипционном уровне подтвердили секвенированием продуктов амплификации кДНК. Методом иммуноблоттинга установили образование белка фитазы в тканях трансгенных растений. Молекулярный вес продукта соответствовал молекулярной массе бактериальной фитазы и составил 51 кДа.

Создание конструкций, обеспечивающих секрецию микробного фермента в ризосферу, может быть важным этапом для решения проблемы фосфорного питания растений.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ОСИНЫ

Тугбаева А.С.¹, Коваликая Ю.А.², Шестибратов К.А.²

¹ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Институт естественных наук, Екатеринбург; ²Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

anastasia.tugbaeva@gmail.com

Грибные лакказы – эффективные природные ферменты, способные окислять лигнин. Лигнин – сложный гетерополимер, основной связующий компонент при образовании вторичной клеточной стенки растений. При синтезе лигнина в растении на стадии полимеризации участвуют лакказы, но растительного происхождения. Однако их функция до настоящего момента не установлена однозначно.

Целью данной работы было – осуществить экспрессию гена грибной лакказы в растениях осины и оценить влияние фермента на фенотип трансгенных растений.

В группе лесной биотехнологии ФИБХ РАН с помощью агробактериальной трансформации осины генотипа 47 было получено 29 линий трансформантов. Для трансформации использовался бинарный вектор pVI-*lac*, несущий ген лакказы из гриба *Trametes hirsute*. Из полученных линий осины была выделена тотальная ДНК. ПЦР-анализ показал отсутствие агробактериальной контаминации и встройку селективного гена *iptII* в 29 линиях, инсерцию целевой конструкции в 17 линиях осины. С помощью метода ОТ-ПЦР была подтверждена экспрессия целевого гена в 7 линиях из 10 проанализированных.

Из 17 линий осины был выделен белковый экстракт, содержащий рекомбинантную лакказу. Анализ активности фермента, выделенного из листьев растений *in vitro*, показал увеличение параметра у 8 линий осины на 26-120% по сравнению с нетрансгенным контролем. Активность фермента 4-х месячных растений осины, адаптированных к условиям защищенного грунта, выше у 9 линий на 14-40% (отличие достоверно). Наблюдается корреляция между повышением активности рекомбинантной лакказы, выделенной из растений *in vitro* и *ex vitro*.

В результате биометрического анализа было показано, что для 5 линий характерно увеличение ростовых показателей до 26,5%; 6 линий характеризуются снижением показателей по сравнению с нетрансгенным контролем до 70,9% для генотипа *47XVIII Lac1*. Анализ эффективности укоренения (среднее количество корней на 1 растение, средняя длина корней, процент укоренения на 6, 9 и 12 сутки эксперимента) в условиях *in vitro* показал, что изучаемые параметры у 9 линий трансформантов были на уровне контроля (80-100% укоренение на 12 день, средняя длина корней на 12 день 9,3 – 15,6 мм, отличие достоверно), для 5 линий ниже контроля (20-40%). Таким образом, экспрессия грибной лакказы в трансгенных растениях осины влияет на высоту растений, активность фермента и эффективность укоренения.

Для дальнейшего анализа выбрано 10 наиболее перспективных линий осины.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-08-31667 и стипендии Президента.

СОЗДАНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ НАНОАНТИТЕЛ ПРОТИВ МИКОПЛАЗМЕННЫХ ИНФЕКЦИЙ

Усупжанова Д.Ю.¹, Щепляков Д.В.², Бурмистрова Д.А.²

¹ФГБОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, ²ФГБУ Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

usupzhanova94@mail.ru

На сегодняшний день диагностика и лечение микоплазменных инфекций – актуальная проблема, затрагивающая как минимум половину населения нашей планеты.

До недавнего времени, при отсутствии выраженных симптомов болезни, микоплазмы считались нормальным компонентом микрофлоры человека, однако последние исследования

показали ошибочность этой точки зрения. По различным данным в России до 60% женщин носительствуют по микоплазме.

Проблема диагностики и лечения встает наиболее остро в связи с тем, что микоплазмоз передается не только половым путем, но и от матери к ребенку.

К тому же, около 34% раковых гиперплазий и опухолей простаты являются следствием вялотекущего хронического воспаления, вызванного микоплазмой.

Тем не менее, из-за низкой иммуногенности этого патогена и сложностей изучения, в настоящее время не существует эффективных средств диагностики и лечения микоплазменных инфекций у человека.

В связи с этим, в последнее время активно изучается возможность разработки средств диагностики и лечения микоплазменных инфекций на основе наноантител.

Наноантитела обладают рядом существенных преимуществ в сравнении с классическими антителами, в частности, они могут быть получены в бактериальных продуцентах, а значит, производство наноантител является экономически целесообразным.

В связи с этим, целью данной работы являлось получение бактериального продуцента на основе *E.coli* штамма M15, эффективно продуцирующего рекомбинантные наноантитела против *Mycoplasma hominis*.

По предварительным расчетам стоимость затрат на производство и очистку наноантител составила около 100 рублей за 1 грамм продукта, что минимум в 500 раз меньше, чем за аналогичное количество любых классических антител.

Данная работа является частью комплексного исследования, продолжением которого является:

Дизайн и внедрение в клиническую диагностику тест-системы для диагностики *Mycoplasma hominis*;

Изучение негативного действия данных наноантител на патоген;

Присоединение к наноантителам видоспецифического Fc-фрагмента для усиленного привлечения макрофагов к борьбе против микоплазменной инфекции;

Проведение экспериментов *in vivo* и доклинические испытания разрабатываемого препарата наноантител.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЬНОГО ОБРАЗЦА, ВХОДЯЩЕГО В СОСТАВ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ГЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Фадеева А.В., Матвеева Ж.В., Степанов А.В., Майоров Н.В.

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,
Саратов, Россия

alevta@bk.ru

Вопросы разработки и производства медицинских иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики особо опасных инфекций занимают одно из центральных мест в деятельности ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Важной задачей является внедрение разработанных препаратов в производство и оптимизация технологии.

Цель работы – совершенствование условий получения положительного контрольного образца (ПКО), входящего в состав наборов реагентов для диагностики чумы, холеры, сибирской язвы, бруцеллеза и туляремии методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретическим учетом результатов.

На сегодняшний день существует большое количество модификаций методов выделения ДНК, тем не менее, вопрос получения чистого препарата, способного храниться в течении срока годности (не менее 6 месяцев), остается открытым. В связи с этим были проведены эксперименты по оптимизации условий получения ПКО. Для этого были взяты коммерческие наборы «Invitrogen» (Германия), «Termoscientific» (США) и «Набор реагентов для выделения ДНК» производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Выделение ДНК осуществляли в соответствии с инструкцией производителя. Выделение ДНК с применением «Набора реагентов для выделения ДНК» (РосНИПЧИ «Микроб») проводили с дополнительной фенол-хлороформной экстракцией.

Препараты ПКО, полученные разными наборами для выделения ДНК, были охарактеризованы по чистоте препарата, его концентрации и воспроизводимости в ПЦР в отдаленных сроках наблюдения. Количество и качество препарата определяли спектрофотометрически по соотношению поглощения при 260 и 280 нм на «СФ-26» (ЛОМО, Россия). Оптимальным считали показатель 1,8, свидетельствующим о чистоте выделенной ДНК. Полученные образцы содержали ДНК в концентрации 20-40 нг/мкл при использовании коммерческих наборов и 40-50 нг/мкл – после дополнительной фенол-хлороформной экстракции. Наличие ДНК подтверждали электрофорезом в 2% агарозном геле.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов установлено, что оптимальной методикой получения ПКО является использование «Набора реагентов для выделения ДНК» производства РосНИПЧИ «Микроб» с дополнительной фенол-хлороформной экстракцией. Результаты подтверждены в ПЦР после хранения препаратов ДНК в течение 6 месяцев.

РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛУЧЕНИЯ НЕКАЛЬЦИФИЦИРУЮЩИХСЯ БИОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ НУЖД СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Фадеева И.С.^{1,2}, Горбачев Д.П.^{1,2}, Сачков А.С.³, Фадеев Р.С.^{1,2}, Фесенко Н.И.², Бритиков Д.В.³, Муратов Р.М.³, Акатов В.С.^{2,3}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино; ³ФГБНУ Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева, Москва, Россия

aurin.fad@gmail.com

Ежегодная потребность сердечно-сосудистой хирургии в эффективных биоматериалах для задач протезирования или реконструкции пороков сердца и сосудов стремительно возрастает. При этом наряду с выраженными преимуществами, эти материалы имеют ряд недостатков, такие как подверженность кальцинозу или дегенерации, наиболее остро проявляющиеся у маленьких детей, женщин в период беременности и пожилых людей, являясь наиболее частой причиной сложных повторных операций. По этой причине, в мире предпринимаются значительные усилия по совершенствованию технологий изготовления биоматериалов для сердечно-сосудистой хирургии.

Целью данной работы является разработка экспериментальных биоматериалов на основе тканей гомоперикарда, изготовленных с применением авторской тканеинженерной технологии подавления кальциноза (Патент РФ №2499611), а также выполнение доклинических исследований этих образцов на крупных лабораторных животных в моделях протезирования сосудов и реконструктивной хирургии перегородок сердца.

Результаты: В лаборатории Тканевой инженерии ИТЭБ РАН разработана технология получения некальцифицирующихся биопротезов сосудов эластического типа (А-АК). На модельной тест-системе подкожной имплантации крысам (ГОСТ Р 10993-6-2011, срок 6 недель) показано, что при модификации А-АК комплексом рекомбинантных ростовых факторов (PDGF/VEGF), матрикс имплантов репопуляризируется не менее, чем на $69 \pm 17\%$ в сравнении с таковыми материалами без модификации рекомбинантными цитокинами ($6,7 \pm 2,14\%$), и не восстанавливают свою способность к кальцинозу после обработки комплексом цитокинов (сод.Са = $0,8 \pm 0,04$ мкг/мг сух. веса ткани), в отличие от нативных тканей или децеллуляризованных биоматериалов (Са = $43,8 \pm 15,7$ мкг/мг).

Также в ИТЭБ РАН разработан инновационный способ предимплантационной подготовки ксеноперикарда (П-АК), обеспечивающий как подавление кальцификации нативной ткани, так и возможность дополнительной модификации (кросс-сшивающими агентами, ростовыми факторами, децеллуляризирующими агентами) без восстановления способности биоматериалов к патологической минерализации (нулевые значения, $p < 0.05$). Указанный результат на данный момент времени не имеет аналогов в мире (принципиально нов).

На данный момент времени разработанные материалы находятся на стадии доклинических испытаний в НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Работа проведена при поддержке Программы «ФИМТ» Президиума РАН и ФСР МП НТС, а также частичной поддержке Стипендиального

гранта Президента РФ (№СП-6867.2013.4, СП-1519.2015.4), Гранта РФФИ (№14-04-32191) и ГЗ ВУЗу (Проект №768).

ПОЛУЧЕНИЕ НОВОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ФИТАЗНОГО ГЕНА *PANTOEA AGGLOMERANS*

Хабилова Н., Зайнуллина А., Частухина И.Б., Валеева Л.Р.

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

khabipova@list.ru

Одной из задач современной биотехнологии является изучение бактериальных ферментов фитаз, способствующих утилизации в почве труднодоступной для растений органической формы фосфора, в частности фитата.

Фитазы бактерий могут быть использованы как в непосредственной обработке почв, так и для создания модифицированных растений, экспрессирующих рекомбинантные фитазы и способных обеспечивать себя необходимым фосфором из фитата. Для успешной экспрессии в растениях необходима оптимизация последовательности генов бактериальных фитаз.

Фитаза бактерии *Pantoea agglomerans* (PaPhyC) обладает высокой специфической активностью, причем pH- и температурный оптимумы фермента соответствуют условиям кислых почв умеренных широт. Таким образом, использование данной фитазы перспективно для широкого применения в сельском хозяйстве, в частности для улучшения роста и урожайности сельскохозяйственных культур.

Цель работы – получение экспрессионной системы в рекомбинантном штамме *E. coli* BL21 pLysS на основе вектора pET28b, продуцирующей химически синтезированную, кодон-оптимизированную фитазу *P. agglomerans*.

Химически синтезированный ген фитазы *P. agglomerans* клонировали в молекулярный вектор pET28b. Полученную конструкцию pET28b paPhyC трансформировали в штамм *E. coli* DH51. Наличие целевого гена в полученных трансформантах показано ПЦР с использованием праймеров к гену фитазы. Результаты секвенирования подтвердили полное соответствие гена paPhyC на плазмиде pET28b рекомбинантного штамма гену фитазы *P. agglomerans*. Для получения экспрессионной системы рекомбинантную плазмиду трансформировали в клетки *E. coli* BL21 pLysS. Селекцию трансформантов проводили на среде LA с добавлением маркерных антибиотиков канамицина и хлорамфеникола. Трансформация подтверждена ПЦР и секвенированием.

Таким образом, нами получен рекомбинантный штамм *E. coli* BL21 pLysS, несущий синтетический ген фитазы *P. agglomerans*. Изучение экспрессии данного фермента и его ферментативных свойств станет решающим этапом как в решении фундаментальных проблем, связанных с регулированием фосфорного обмена на клеточном уровне, так и в применении гена фитазы в биотехнологии растений.

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЛАЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ ФТОРХИНОЛОНОВОГО РЯДА МЕТОДАМИ *IN VITRO*

**Хорольская Ю.И.¹, Александрова О.И.², Околов И.Н.³, Тахтаев Ю.В.³,
Хинтуба Т.С.³, Блинова М.И.²**

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет; ²ФГБУН Институт цитологии РАН; ³СПб филиал ФГБУ Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова, Санкт-Петербург, Россия

juliya_khorolskaya@mail.ru

Важным критерием выбора эффективного антибиотика помимо широты спектра антимикробного действия, фармакокинетических и фармакодинамических свойств является безопасность лекарственного средства. Исследования цитотоксичности лекарственных препаратов методами *in vivo* являются трудоемкими, дорогостоящими, травмируют подопытных животных и приводят к их гибели. Они осложнены рядом факторов и не являются

достаточно информативными. Всемирная организация здравоохранения, международное медико-биологическое общество рекомендуют использование альтернативных моделей и методов в токсикологии. Показано, что они являются достаточно точными, простыми, быстрыми в постановке, перспективными, универсальными, практически ценными, селективными и экономически рентабельными. Преимущество методов *in vitro* состоит и в том, что они являются достаточно информативными для оценки общей цитотоксичности лекарственных препаратов и выявления их специфической токсичности. Высокая технологичность процесса исследований позволяет проводить быстрый скрининг одновременно нескольких препаратов непосредственно на клетках и тканях человека.

В офтальмологии для профилактики послеоперационных инфекционных осложнений активно применяются синтетические антибактериальные препараты группы фторхинолонов. Однако нет единого мнения о токсичности этих препаратов. Цель данной работы состояла в сравнительной оценке цитотоксичности шести антибактериальных глазных капель фторхинолонового ряда: Ципромед™, Флоксал™, Офтавикс™, Сигницеф™, Вигамокс™, Зимар™ методами *in vitro*.

В качестве тест-систем были использованы клетки постоянной трансформированной клеточной линии СНО-К1, нормальные фибробласты кожи человека и клетки постоянной трансформированной клеточной линии С109-1-5с-4 (клетки нормальной конъюнктивы человека). Влияние тестируемых препаратов на жизнеспособность клеток оценивали количественно (метод клонирования и колориметрические методы оценки пролиферации) и качественно (оценка морфологического состояния клеток).

Было установлено, что протестированные препараты могут оказывать цитостатический эффект в условиях *in vitro* и отличаются по своему цитотоксическому потенциалу. Кроме того, результаты исследования показали принципиальную возможность использования культивируемых клеток для сравнительной оценки цитотоксического действия различных офтальмологических препаратов, что имеет практическое значение при выборе и обосновании применения лекарственных препаратов.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ СУСПЕНЗИОННЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК СНО – ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ

Храпылина А.С., Демьянова Е.В., Петров А.В., Вахитов Т.Я.

ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

anneettaa@mail.ru

Многие современные лекарственные препараты рекомбинантных белков получают с использованием клеток СНО. В процессе культивирования клетки–продуценты секретируют в среду целевой рекомбинантный белок и различные низкомолекулярные метаболиты – продукты катаболизма глюкозы, аминокислот и других компонентов питательной среды. Идентификация и изучение динамики внеклеточных метаболитов прокладывает путь к более полному пониманию происходящих в клетках СНО биохимических процессов, позволяет регулировать рост клеток и биосинтез рекомбинантных белков.

Цель исследования – изучение состава и динамики низкомолекулярных внеклеточных аминокислот и карбоновых кислот клеток СНО–продуцентов различных рекомбинантных белков, а также оценка влияния этих соединений на жизнеспособность, плотность жизнеспособных клеток и выход целевого белка.

Суспензионные культуры клеток СНО, выращивали в колбах и биореакторе. Исходная клеточная плотность при засеве составляла $0,5 \times 10^6$ кл/мл. Орбитальный шейкер с колбами (130 об/мин) был помещен в CO₂-инкубатор (5% CO₂, t=37°C). Ежедневный анализ состава культуральной жидкости проводили методом ВЭЖХ, анализ целевых белков – ИФА.

Исследован состав низкомолекулярных метаболитов при культивировании 4-х продуцентов различных рекомбинантных белков, а также непродуцирующей белка линии клеток СНО. Идентифицированы карбоновые кислоты: молочная, янтарная, лимонная, уксусная, муравьиная, изобутановая, масляная и валериановая кислота. Молочная, лимонная и янтарная

кислоты были обнаружены в среде всех линий клеток СНО с 1 суток культивирования, но их динамика различалась. К последним суткам культивирования выделялись масляная, изобутановая и валериановая кислоты. Аминокислотный анализ показал, что к 5-м суткам для большинства исследованных продуцентов происходит увеличение содержания аспарагиновой и глутаминовой кислот, глицина, аланина, пролина.

Внесение добавок карбоновых кислот в среду оказывало различный эффект на культуры и выход целевого белка. Добавление янтарной кислоты (С=5 мМ и С=10 мМ) повышало продуктивность и жизнеспособность клеток, а добавление сукцината натрия той же концентрации не оказывало стимулирующего эффекта. Добавление малоновой и молочной кислот в обоих случаях ингибировало рост клеток и способствовало снижению выхода целевого белка. Получены данные о влиянии низкомолекулярных метаболитов на рН, концентрации аммиака и лактата, потребление глюкозы и глутамин.

РЕГИСТРАЦИЯ ТРАСПОРТА МОЛЕКУЛ ДНК В КАНАЛЕ ЛИПИДНОЙ НАНОТРУБКИ В УСЛОВИЯХ МАЛОЙ ИОННОЙ СИЛЫ

**Чекашкина К.В.^{1,2,3}, Кузьмин П.И.², Протопопова Г.Е.¹, Ушаков А.М.³,
Позмогова Г.Е.¹, Клинов Д.В.¹, Башкиров П.В.^{1,2}**

¹ФГБУН Научно-исследовательский институт физико-химической медицины, ²ФГБУН Институт физической химии и электрохимии РАН, Москва; ³ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

ksenia.chekashkina@gmail.com

Явления переноса вещества внутри наноканалов (радиус люмена менее 100 нм) представляют огромный интерес для прикладных направлений биологии, для медицины и техники. Особое внимание уделяется исследованию транспорта одиночных молекул ДНК через наноканалы/нанопоры, как искусственные, так и встречающиеся в природе, радиус просвета которых практически совпадает с радиусом самой нити ДНК.

В данной работе мы предлагаем альтернативный подход, который позволяет в условиях малой ионной силы регистрировать нахождение молекулы ДНК внутри наноканала, чей поперечный размер (5-10 нм) значительно превосходит радиус ДНК. В качестве наноканала нами используется люмен липидной нанотрубки (НТ). Отличительной особенностью такого наноканала является то, что его стенка представляет собой двумерный жидкий кристалл, вдоль поверхности которого также могут возникать явления переноса.

Липидные НТ формируются в условиях малой ионной силы (10 мМ КСl) из электронейтральных липидов. Радиус люмена НТ зависит от липидного состава и изменяется от 4 до 10 нм. Молекула ДНК имеет высокую плотность заряда, который в растворе электролита экранируется ионной шубой; радиус шубы определяется ионной силой раствора и при концентрации 10 мМ КСl равен 3 нм. Нахождение молекулы ДНК внутри канала НТ приводит к локальному увеличению концентрации ионов, что регистрируется по росту удельной проводимости люмена НТ. Транспорт ДНК проявляет чувствительность к направлению электрического поля внутри канала НТ. Изменение полярности прикладываемого к концам НТ электрического напряжения, полностью блокирует транспорт ДНК, что отражается в проявлении люменом НТ свойств диода.

Дальнейшее изучение особенностей переноса вещества внутри люмена НТ позволит в полной мере осуществлять контроль транспорта одиночных макромолекул через наноканалы, обладающие схожими с НТ геометрическими и физическими характеристиками.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (грант №14-14-01001 и 14-25-00013).

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ЖИРОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Чирикова М.С., Шакун Т.П., Петрова Г.М., Самсонова А.С.
ГНУ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

margarita.chirikova@mail.ru

Перспективным методом очистки жиросодержащих сточных вод является использование высокоактивных микроорганизмов-деструкторов и продуцируемых ими ферментов. Одними из таких ферментов являются липазы, синтез которых зависит от скорости роста и развития продуцента, его биосинтетической способности. В связи с этим, для каждого штамма характерны свои оптимальные условия культивирования, включающие компоненты питательной среды и физико-химические факторы процесса ферментации, необходимые для проявления высокой липазной активности.

Целью нашего исследования явился подбор среды для промышленного выращивания микроорганизмов-деструкторов жировых веществ и ее оптимизация по источнику углерода с целью повышения липазной активности микроорганизмов-деструкторов и удешевления процесса культивирования.

Объектами исследования являлись ранее отобранные высокоактивные штаммы микроорганизмов-деструкторов жировых веществ: *Rhodococcus ruber* 2В, *Rhodococcus sp.* P1-3ФН, *Pseudomonas putida* 10АП и *Bacillus subtilis* 6/2-АПФ1.

Подбор питательной среды для промышленного выращивания микроорганизмов провели с использованием сред: Раймонда, М9, Е8 и Мейнелла. В качестве индуктора применяли подсолнечное масло.

Установлено, что максимальную липазную активность (220 – 280 мкмоль олеиновой кислоты·мл⁻¹·час⁻¹) исследуемые штаммы проявили на среде Мейнелла, выбранной нами для дальнейших исследований.

Оптимизацию питательной среды по источнику углерода проводили на среде Мейнелла, содержащей мелассу в концентрации 5, 10, 20, 30 г/л. Показано, что штаммы *Rhodococcus ruber* 2В, *Pseudomonas putida* 10 АП, *Bacillus subtilis* АПФ-1 проявляли максимальную липазную активность, составляющую 310, 300, 240 мкмоль олеиновой кислоты·час⁻¹·мл⁻¹ соответственно, через 48 часов культивирования на среде, содержащей 5 г/л мелассы. Наибольшую липазную активность (270 мкмоль олеиновой кислоты·час⁻¹·мл⁻¹) штамм *Rhodococcus sp.* P1-3ФН проявил на средах с 10 и 20 г/л мелассы.

Таким образом, подобрана и оптимизирована питательная среда для культивирования микроорганизмов-деструкторов жировых веществ. Снижение в рецептуре среды Мейнелла количества мелассы с 30 до 5 г/л способствует получению максимального выхода биомассы с высокой липазной активностью и удешевлению процесса культивирования микроорганизмов-деструкторов жировых веществ.

СЕЛЕКЦИЯ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Шакирова М.М.^{1,2}, Миронов А.А.¹, Моргунов И.Г.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино; ²ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

shakirovamm@mail.ru

Пальмитолеиновая кислота (цис-9-гексадеценовая кислота, ПОК) относится к омега-7 группе мононенасыщенных жирных кислот. ПОК находит широкое применение в медицине, косметике и пищевой промышленности, а также используется для технических целей в качестве антифризной добавки к биодизельному топливу и как сырье для производства 1-октена, применяемого при получении линейного полиэтилена низкой плотности.

Основным источником получения ПОК является нутряной жир морских животных, туловищный жир кашалота, куриный желток, жир норки, орехи макадамии и облепиха. Методами генной инженерии активизированы механизмы сверхсинтеза ПОК в масличных культурах. Однако низкая урожайность и слабые агрономические характеристики растений,

потребность в значительных с/х площадях и зависимость от погодных условий ограничивают их коммерциализацию как источника ПОК. Развитие микробиологического производства является перспективным направлением промышленного получения ПОК.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы была селекция штаммов дрожжей для выявления потенциальных продуцентов пальмитолеиновой кислоты.

В работе использовали 10 штаммов дрожжей видов *Debaryomyces globosus*, *Yarrowia lipolytica*, *Trichosporon pullulans*, *Candida maltose*, *Candida olea*, *Candida rugosa*. Показано, что изученные штаммы значительно различались по содержанию липидов и способности синтезировать пальмитолеиновую кислоту. Содержание липидов у исследованных штаммов варьировало от 2,5 до 37,5%, а доля пальмитолеиновой кислоты – от 7,13 до 31,86%. Наиболее высокая доля пальмитолеиновой кислоты обнаружена у штаммов *Y. lipolytica* 68 и *D. globosus* ВКПМ У-9539 (31,86 и 27,60% от липидов, соответственно). Установлено, что синтез пальмитолеиновой кислоты происходит за счет десатурации пальмитиновой кислоты.

КОНСТРУИРОВАНИЕ НЕФЕРМЕНТНЫХ ДИАГНОСТИКУМОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИРАБИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК В ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗЕ

Шарапова Н.А., Абрамова Е.Г., Киреев М.Н.

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,
Саратов, Россия

podbor_nat@mail.ru

Для определения активности гипериммунных сывороток продуцентов при производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина традиционно применяют тест *in vivo* – биологическую реакцию нейтрализации (РН) вируса бешенства на белых мышах. Данный метод трудоемок, требует использования вируса, большого количества животных и длительного времени наблюдения (14 дней). В связи с этим актуальной является разработка методов *in vitro* для определения специфической активности антирабических сывороток с помощью неферментных диагностикумов.

Цель работы – конструирование конъюгатов с использованием в качестве маркера наночастиц коллоидного золота (КЗ) для определения уровня содержания специфических антител в антирабических сыворотках в прямом и непрямом дот-иммуноанализе (ДИА).

Золь получали из золотохлористоводородной кислоты восстановлением цитратом натрия при 100°C, в результате были получены стабильные и гомодисперсные золи с наночастицами золота 15–17 нм.

При конструировании конъюгата для прямого ДИА биологической составляющей являлся гликопротеид (ГП), выделенный из концентрированного и очищенного вируса бешенства штамма «Москва 3253», репродуцированного на культуре клеток Vero. Для проведения непрямого ДИА готовили конъюгат с белком А (*Staphylococcus aureus*).

Определение активности иммунных сывороток лошадей-продуцентов в прямом ДИА с применением конъюгата на основе КЗ и ГП позволило выявить титры специфических антител на уровне 1:320–1:640. При постановке непрямого ДИА использовали конъюгат белка А с наночастицами КЗ. В качестве антигена на твердой фазе сорбировали выделенный из вируса бешенства ГП. Активность иммунных сывороток, зарегистрированная в непрямом ДИА, соответствовала титрам антител 1:320–1:640, т.е. оба варианта ДИА позволяют определять титры специфических антител практически на одном уровне. Полученные результаты коррелируют с результатами РН, коэффициент корреляции $r=0,9$. Немаловажно, что белок А является универсальным компонентом, заменяющим антивидовые иммуноглобулины при постановке непрямого ДИА.

Таким образом, сконструированные диагностикумы с использованием наночастиц КЗ и двух видов иммунореагента – ГП вируса бешенства (для прямого ДИА) и белка А (для непрямого ДИА) позволяют в течение нескольких часов определять активность иммунных сывороток продуцентов, что актуально при масштабном производстве антирабического иммуноглобулина.

НОВЫЙ СПОСОБ БЫСТРОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ЗАРЯЖЕННЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ

**Шляпников Ю.М.¹, Кидд Д.^{1,2}, Морозова Т.Я.^{1,2}, Шляпникова Е.А.^{1,2},
Морозов В.Н.^{1,2}**

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,
Россия; ²Университет Джорджа Мэйсона, Виргиния, США

shlyapnikov@online.stack.net

Разработан простой и быстрый способ эффективного концентрирования любых заряженных макромолекул, в том числе белков, с помощью электрофореза в конической ячейке, выполненной из диализной мембраны и частично погружённой в раствор электролита. В ходе концентрирования уровень внешнего электролита медленно опускается, при этом электрическое поле внутри ячейки, достигающее своего максимума на уровне внешнего раствора, концентрирует заряженные молекулы в нижней части конуса ячейки. Показано, что белки могут быть сконцентрированы примерно в 100 000 раз за 15 минут с общим выходом 60-80%.

Чтобы собрать белки, сконцентрированные в объёме в несколько нанолитров, были применены химически активированные магнитные частицы, заранее помещённые в остриё конической ячейки. Собранные таким образом на поверхности магнитных частиц белки могут быть проанализированы иммунохимически, что было продемонстрировано на примере анализа конденсата выдыхаемого воздуха (ЕВС) на присутствие человеческого иммуноглобулина (hIg). Для этого магнитные частицы со связанными на поверхности сконцентрированными из ЕВС белками помещали на микрочип с нанесёнными антителами, специфичными к hIg.

Установлено, что предел иммунохимического обнаружения hIg указанным способом составляет 0,5 пг/мл. Содержание hIg в ЕВС оценено как ~5 нг/мл. Показано, что наряду с отрицательно заряженными макромолекулами возможно также концентрирование положительно заряженных белков при условии использования ячейки из модифицированной диализной мембраны, имеющей слабый положительный заряд.

Методика может быть использована для концентрирования и обнаружения следовых количеств патогенов и токсинов, при кристаллизации белков, а также во многих других приложениях.

ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ЛАТЕКСОВ ПОЛИСТИРОЛА В ВОДНО-СПИРТОВЫХ СРЕДАХ

Шпилина И.Д., Широкова И.Ю., Беляев А.П., Кучук В.И.

ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

shpilina.ira4ka@gmail.com

Появление новых методов синтеза латексов полистирола с регулируемыми свойствами расширяет их использование в иммунодиагностике в качестве носителей биополимеров и приводит к необходимости исследования таких коллоидно-химических свойств, как агрегативная устойчивость в водных и смешанных средах. Устойчивость полимерных микросфер обеспечивается зарядом, возникающим в результате кислотно-основных взаимодействий поверхностных функциональных групп. Образование заряда, в свою очередь, приводит к формированию двойного электрического слоя, который является основным фактором устойчивости. Однако в водно-спиртовых средах, часто используемых для модификации латексов, образование заряда может быть затруднено, что, в свою очередь, должно способствовать понижению агрегативной устойчивости. С другой стороны, существует возможность модификации поверхности латексов компонентами дисперсионной среды и таким образом проявлению фактора стерической стабилизации.

В связи с этим целью данной работы было исследование агрегативной устойчивости полимерных микросфер в среде вода-этанол и вода-изопропанол с концентрацией 10-30% мол.

В качестве объектов в работе были использованы моодисперсные гидрофобные сферические частицы полистирола со средним диаметром $d=0.23$ мкм с поверхностными

карбокисильными группами и $d=0.19$ мкм с поверхностными аминогруппами. Исследования проводились методом спектротурбидиметрии, при этом для дисперсной системы определяли размер частиц и численную концентрацию в течение длительного времени наблюдения (5 часов). Изменение числа частиц описывали как через обратную численную концентрацию, так и через степень агрегации. Все эксперименты проводили в присутствии индифферентного электролита NaCl с концентрацией 0.001 моль/л.

В ходе работы было установлено, что увеличение концентрации этанола в воде (с 10% мол. до 30% мол.) приводит к монотонному увеличению степени агрегации от 1.5 до 2.5, для системы изопропанол–вода при переходе от концентрации от 10% мол. к 30% мол. степень агрегации остается равной 2.5. Известно, что экстремальные свойства водно-спиртовых смесей наблюдаются при 25% мол. (максимум вязкости, контракции и пр.).

Однако данные спектротурбидиметрии показывают отсутствие аналогичной экстремальной зависимости в характере агрегативной устойчивости.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВ И ВНУТРИВИДОВЫХ ТАКСОНОВ *ROSA (ROSACEAE)* И *EREMOTHECIUM (EREMOTHECIACEAE)*, СИНТЕЗИРУЮЩИХ ЭФИРНОЕ МАСЛО

Шпичка А.И., Семенова Е.Ф., Преснякова Е.В., Князькова А.А.
ФГБОУ ВПО Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

ana-shpichka@yandex.ru

В настоящее время в связи с ограничениями и трудоемкостью плантационное выращивание розы эфирномасличной не способно удовлетворить увеличивающийся спрос пищевой, парфюмерно-косметической, химико-фармацевтической промышленности, что ведет к возрастанию интереса к альтернативным источникам получения ароматических продуктов розового направления запаха, в частности, с использованием штаммов гомоталличных аскомицетов *Eremothecium ashbyi* Guilliermond и *E. gossypii* Kurtzman. Целью проведенного исследования был сравнительный анализ структурных особенностей организации маслосинтеза у *Rosa* L. и *Eremothecium* Borzi.

Объектами исследования служили виды *Rosa*: *R. alba* L., *R. centifolia* L., *R. gallica* L., *R. damascena* Mill, *R. rugosa* Thunb., *R. canina* L., *R. cinnamomea* L., *R. odessiana* Hort., *R. lutea* Mill., штаммы *E. ashbyi* Guilliermond: ВКМФ-124, ВКМ F-3009, ВКМ F-4565D, ВКМ F-4566D, ВКПМ F-36, ВКПМ F-340 и *E. gossypii* Kurtzman: ВКМФ-2627, ВКМФ-3276, различающиеся уровнем синтеза и накопления монотерпеновых и ароматических спиртов как главных компонентов розового эфирного масла.

Нами было выявлены особенности секреторных структур видов розы, представленных эндогенными вместилищами и железистым эпидермисом, а также видов и штаммов эремотеция, имеющих неспециализированные секреторирующие гифы.

Впервые проведенное нами исследование анатомо- и цитоморфологических аспектов биосинтеза, накопления и выделения эфирного масла розового направления запаха важно как для разработки способов его получения, так и для характеристики биологической роли вторичных метаболитов розы и эремотеция.

ВЫДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ ЭНДОСПЕРМОГЕНЕЗА И СОЗДАНИЕ АНТИСМЫСЛОВЫХ КОНСТРУКЦИЙ У РАСТЕНИЙ *A. THALIANA*

Ясыбаева Г.Р., Рожнова Н.А., Геращенко Г.А., Чемерис А.В.
ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

gulnar.yas@mail.ru

У цветковых растений с половым типом размножения инициация развития семени происходит только после сигнала об оплодотворении, а при его отсутствии яйцеклетка и центральная клетка дегенерируют через несколько дней. Однако существуют растения, способные к образованию семян независимо от оплодотворения. Этот способ размножения известен как апомиксис, при котором полученное потомство является полной копией

материнского растения. Апомиктичное развитие включает в себя три ключевых компонента: нарушение гаметогенеза (апомейоз), партеногенез и автономное развитие эндосперма. Полагают, что получение трансгенных растений с дифференциально экспрессирующимися генами апомиктической триады под контролем специфичных промоторов позволит создать апомиксис у форм с половым размножением, например, у *A. thaliana*. Этот подход поможет понять особенности функционирования генома при переходе от амфимиксиса к апомиксису у цветковых растений. Интерес к апомиксису обусловлен огромным биотехнологическим потенциалом, так как служит хорошим способом закрепления гетерозиса и получения нерасщепляющегося потомства от гибридов с наилучшими сочетаниями полезных родительских качеств.

Целью данной работы стало получение модельных трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* с интегрированными генами эндоспермогенеза под различными промоторами.

Полноразмерные гены *FIE*, *MEA*, *FIS2* и промоторы *pUBQ*, *pMS5* были выделены из геномной ДНК *A. thaliana* при помощи HiFi ДНК-полимеразы. В работе использовали бинарный вектор *pCambia 1301*. Для экспериментов по изучению пониженной экспрессии генов созданы конструкции, содержащие гены эндоспермогенеза *FIE*, *MEA* и *FIS2* в антисмысловой ориентации в бинарных векторах *pCambia 1301* под конститутивным промотором *pUBQ*, а также под мейоз-специфичным промотором *pMS5*. Трансформацию *A. thaliana* проводили с помощью бактерий *Agrobacterium tumefaciens* методом погружения цветков (floral dip).

Предполагается получение модельных растений *A. thaliana*, у которых будет образовываться эндосперм без оплодотворения.

Работа была выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант №14-04-97089 *p_поволжье_a*).

СЕКЦИЯ «БИОФАРМАЦЕВТИКА»

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА АНТИОНКОРАН-М В СОЧЕТАНИИ С ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИЕЙ

**Алексеев И.В.¹, Якубовская Р.И.², Немцова Е.Р.², Безбородова О.А.²,
Свердлов Е.Д.¹**

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, ²ФГБУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена, Москва, Россия

irina.alekseenko@mail.ru

Разработан новый генно-терапевтический противоопухолевый препарат «АнтионкоРАН-М» для лечения солидных опухолей. Препарат представляет собой комплекс плазмидной конструкции и блок-сополимера ПЭГ-ПЭИ-ТАТ (полиэтиленгликоль-полиэтиленимин-ТАТ-пептид). Плазмидная конструкция содержит два терапевтических гена: ген-убийцу тимидинкиназу вируса простого герпеса и ген цитокина гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора.

В ходе доклинических испытаний АнтионкоРАН-М показано, что препарат обладает высокой противоопухолевой активностью: увеличение продолжительности жизни животных 30–86 %, торможение роста опухоли 75–83 %, торможение метастазирования 80–82 % в зависимости от типа опухоли, и низкой токсичностью.

На мышах с привитой опухолью С26 (аденокарцинома кишечника) показано, что эффективность увеличивается при комбинированном использовании АнтионкоРАН-М и лучевой терапии, не приводя к появлению дополнительной токсичности. Увеличение продолжительности жизни животных, получавших только лучевую терапию составило 18%, только АнтионкоРАН-М – 35%, сочетанное лечение (АнтионкоРАН-М+лучевая терапия) – 71%. Исследование поддержано грантом Президента России МК-6185.2015.4

АКТИВНОСТЬ ДЕСТАБИЛАЗЫ-ЛИЗОЦИМА В ПРОТЕОЛИПОСОМАХ РАЗЛИЧНОГО ЛИПИДНОГО СОСТАВА

Антипова Н.В., Петрова Т.Д., Онищенко Н.Р., Завалова Л.Л.

ФГБУН Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

nadine.antipova@gmail.com

Дестабилаза-лизоцим (DL) – компонент секрета слюнных желез медицинской пиявки *Hirudo medicals*, сочетающий в себе изопептидазную, антимицробную и лизоцимную функции. Совместное антимицробное и тромболитическое действие препарата DL может дать дополнительное преимущество при лечении синдрома ДВС при сепсисе.

Известно, что DL склонна к образованию ди- и тетрамеров. При этом активный центр фермента взаимодействует с положительно заряженными остатками в С-концевой части соседней молекулы и часто бывает обращен внутрь ассоциата, что затрудняет реализацию свойств фермента. Для предупреждения образования комплексов и повышения эффективности работы рекомбинантного белка в качестве потенциального лекарственного средства мы предложили включать рекомбинантный DL в липосомы. Предположительно, липидный бислой липосомом сольбилизирует молекулы DL, обладающие гидрофобной поверхностью.

Протеолипосомы готовили стандартным методом экструзии, добавляя белок на стадии гидратации липидной пленки. Основу липидного бислоя составлял яичный фосфатидилхолин (яФХ) либо смесь яФХ и 10 мол. % анионного липида фосфатидилинозита (ФИ) из *S. cerevisiae*. Включение и активность DL в составе липосом контролировали с помощью гель-хроматографии на сефадексе G-75. За выходом липосом с колонки следили по флуоресценции метчика бислоя BODIPY-PC, а количество белка во фракциях определяли по методу Лоури. Фибринолитическую активность определяли по модифицированному методу Аструпа. Лизоцимную активность определяли нефелометрически по просветлению суспензии клеточных

стенки бактерии *M. lysodeikticus*. Антимикробная и изопептидазная активности липосомальных фракций рекомбинантной DL в случае липосом из яФХ (9 и 40000 Е/мг, соответственно) значительно выше активности исходного рекомбинантного препарата (4 и 2000 Е/мг). Еще больше способствует увеличению активности DL его включение в состав анионных липосом из яФХ-ФИ, 9 : 1 (16 и 60000 Е/мг). Возможно, взаимодействие положительно заряженных аминокислотных остатков С-концевого фрагмента DL с поверхностью анионных липосом дополнительно стабилизирует мономеры DL.

Таким образом, DL, включенный в липосомы, является многообещающей лекарственной формой широкого спектра действия. В настоящий момент проводятся исследования по изучению структуры полученных протеолипосом.

ТЕСТИРОВАНИЕ СИНЕРГИЗМА МЕЖДУ АНТИБИОТИКАМИ И ГАЛОГЕНИРОВАННЫМИ ФУРАНОНАМИ И 2-ПИРРОЛИНОНАМИ

Ахмедуллина Р.А., Бабынин Э.В.

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

rami1292@ya.ru

Синергетический эффект от обычно используемых антибиотиков и ингибиторов системы кворум-сенсинга у бактерий, может иметь терапевтическое значение в борьбе с бактериальными биопленками. Например, галогенизированные фураноны, способные ингибировать кворум-сенсинг способны снизить вирулентность, образование биопленки и увеличить бактериальную чувствительность к антибиотикам.

Целью данного исследования явился поиск синергетического эффекта между несколькими антибиотиками в комбинации с галогенированными фуранонами и 2-пирролинонами на примере штамма TA1535 *Salmonella typhimurium*. С помощью диско-диффузного метода был установлен синергизм между тестируемыми галогенированными фуранонами и 2-пирролинонами с аминогликозидами (канамицин, мономицин). Методом шахматной доски были проанализированы выявленные пары соединений, показавших синергический эффект, однако, этим методом не удалось подтвердить синергизм. Поскольку в диско-диффузном методе анализа тестирование осуществляется с использованием твердых сред, где бактерии образуют биопленки на поверхности агара, в то время как тест шахматной доски выполняется с использованием жидких сред, где бактерии растут как планктонные формы, мы предполагаем, что наблюдаемые различия могут быть связаны непосредственно с ингибирующей биопленки активностью тестируемых нами галогенированных фуранонов и 2-пирролинонов.

СТРЕССОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЭКДИЗОНА

Ахметкиреева Т.Т., Никоноров Ю.М.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

tansulpan.ufa@gmail.com

Экдистероиды, хорошо исследованные в аспекте регуляции развития и репродукции насекомых, сейчас снова привлекают внимание как предполагаемая замена стероидных препаратов андрогенной природы. Оценка стрессопротекторного действия в ситуации теплового стресса проведена на личинках комнатной мухи III стадии из линий с сокращенной (Sh gen, 17-23 сут.) и увеличенной (L gen, 44-52 сут) продолжительностью жизни. Тепловой стресс (+40°C, 10 мин) вызывал снижение жизнеспособности личинок из линии Sh gen на 10%, а также замедлял развитие и повышал смертность на стадии пупария в обеих линиях. Предварительная контактная обработка личинок 20-гидроксиэкдизоном в концентрации 2·10⁻⁷ М снимала негативные последствия теплового стресса. Стрессопротекторный эффект выражался в снижении смертности после теплового стресса как на стадии личинки, так и на стадии пупария, а также в восстановлении скорости развития на стадии пупария. Кроме того, отмечено отсроченное позитивное влияние на продолжительность жизни имаго, развившихся из обработанных личинок: в обеих линиях продолжительность жизни самок и самцов в вариантах с предварительной обработкой 20-гидроксиэкдизоном возросла, при этом отмечены

генотипические различия между линиями. В аналогичном эксперименте с личинками из инбредных линий Sh 28 и L 2 (выделенных соответственно из линий Sh gen и L gen) установлено стимулирующее влияние экдизона на усиление транскрипции гена Hsp 70 и антагонистическое влияние на транскрипционную активность гена транспозазы транспозона Hermes, индуцируемой тепловым стрессом. Исследования поддержаны грантом РФФИ 12-04-01450-а.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНАЯ ДНК ИЗ МОЛОК РЫБ

Баганов М.А., Юрьев Д.А.

ФГБОУ ВПО Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, Улан-Удэ, Россия

Starcarry1666@gmail.com

Здоровье может быть достигнуто и сохранено лишь при удовлетворении физиологических потребностей человека в энергии и всем комплексе пищевых и биологически активных веществ.

Основным источником получения низкомолекулярной ДНК являются гонады рыб. ДНК, из вышеперечисленных источников, может быть выделена в высокомолекулярной и низкомолекулярной формах. Низкомолекулярная ДНК (молекулярная масса $2-5 \times 10^5$ Да) является значительно более дешевой и доступной для технологического получения, разрешена к применению как биологически активная пищевая добавка и обладает целым рядом лечебно-профилактических свойств, таких как повышение физической и умственной работоспособности, иммуномоделирующее, противовирусное, кардиопротекторное и противоопухолевое действия.

В работе использовали гонады (молоки) следующих видов гидробионтов: окуня *Perca Linne*, плотвы *Rutilus rutilus* в замороженном виде.

Для получения низкомолекулярной ДНК использовали метод, разработанный учеными ТИПРО-центра (Пат. № 915446). Антиоксидантную активность проверяли на приборе «ЦветЯуза-01-АА».

Как показали исследования, содержание ДНК в молоках у пресноводных рыб составило: окунь – 3,73%, плотва – 1,4%. Сравнение содержания ДНК в семенниках одинаковых стадий зрелости у пресноводных рыб оказалось существенно ниже, чем установленное у морских: кета-7,8 %, горбуша-5,0 %, сельдь-4,5 %, треска-3,75 %, навага-3,4 %, минтай-3,0 %.

Тема свободных радикалов и реакционноспособных кислородсодержащих частиц продолжает привлекать повышенное внимание. Потребляемая нами пища и состояние окружающей среды оказывают существенное влияние на биологическое производство свободных радикалов. Высокая реакционная способность радикалов приводит в физиологических условиях к ускорению процессов окисления, разрушающих молекулярную основу клетки, и вызывает в результате многочисленные патологические состояния. Антиоксиданты играют важную роль в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, существенно влияя на его состояние, поэтому антиоксиданты и исследование антиокислительных свойств соединений в последнее время получили широкое распространение.

Антиоксидантная активность полученного препарата ДНК из молок пресноводных рыб (окуня и плотвы) составила соответственно: 0,38 и 2,5

Полученные результаты позволяют рекомендовать применение препарата ДНК для коррекции иммунодефицита и восстановления баланса между процессами перекисного окисления липидов и механизмами антиоксидантной защиты.

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОК ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КАНДЕСАРТАНА, ЛОЗАРТАНА И РЕСВЕРАТРОЛА *IN VITRO*

Беляева А.В., Афонин В.Ю., Анисович М.В.

ГНУ Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Aleksandra447@yandex.ru

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) – основные причины смертности во всем мире, поэтому разработка эффективных препаратов для лечения ССЗ, а также изучение имеющихся лекарств по новому назначению является актуальным. Целью данного исследования являлось изучение влияния кандесартана цилексетила, лозартана и ресвератрола на молекулярно-биологические параметры клеток *in vitro*.

Для проведения эксперимента использовали клетки жировой ткани человека. Изучали число клеток с повреждениями ДНК, распределение клеток по фазам клеточного цикла с помощью проточной цитометрии (Cytomics FC 500 «Beckman Coulter») после применения кандесартана, лозартана и ресвератрола.

Выявлен стимулирующий эффект ресвератрола в дозе 50 мкг/мл на процессы пролиферации и дифференцировки клеток при совместном использовании с кандесартаном в дозе 1,5 мкг/мл и лозартаном в дозе 2 мкг/мл. Установлены защитные свойства ресвератрола, что проявлялось в уменьшении количества клеток с признаками повреждения генетического материала. Показано, что применение кандесартана является более безопасным по сравнению с использованием лозартана, поскольку введение первого вещества в культуру клеток приводило к значительному снижению числа клеток с признаками апоптоза и с микродрями.

Установлено, что ресвератрол в дозе 50 мкг/мл оказывает стимулирующее влияние на пролиферативные процессы *in vitro*, а в дозе 100 мкг/мл приводит к проявлению цитотоксических свойств, что выражается в снижении количества клеток в пробе по сравнению с контролем ($P < 0,05$).

Анализ сочетанного применения кандесартана в дозе 1,5 мкг/мл и ресвератрола в дозе 50 мкг/мл, лозартана в дозе 2 мкг/мл и ресвератрола в дозе 50 мкг/мл, а также влияния кандесартана и лозартана на клеточную культуру позволяет сделать вывод о том, что комплексное применение антигипертензивных средств с ресвератролом является более безопасным, поскольку отмечено снижение числа клеток, подвергшихся процессам клеточной гибели.

ИЗУЧЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ ФРАКЦИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ

Богданов В.В.¹, Березин Б.Б.¹, Ильина А.П.¹, Ямскова В.П.², Ямсков И.А.¹

¹ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН,

²ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

vse-bogd@yandex.ru

Ранее в тканях животных и растений нами были обнаружены вещества, названные мембранотропными гомеостатическими тканеспецифическими биорегуляторами (МГТБ), являющиеся факторами межклеточной адгезии и влияющие на процессы клеточной дифференцировки, миграции и пролиферации. Их биологическое действие является тканеспецифичным при отсутствии видовой специфичности, что было показано при исследовании МГТБ млекопитающих на моделях низших позвоночных животных. Также очень важно свойство МГТБ проявлять биологическое действие в сверхмалых концентрациях (10^{-8} - 10^{-15} мг/мл). В данной работе было продолжено изучение пептидных фракций, по свойствам сходных с МГТБ, в ткани гепатопанкреаса краба. Ткань подвергалась экстрагированию и выделению по методике, ранее разработанной для МГТБ с последующим изучением физико-химическими методами. Контроль фракции на проявление специфической для МГТБ биологической активности вели специальным адгезиометрическим методом. Спектроскопией кругового дихроизма было показано наличие в полученной из тканевого экстракта

пептидсодержащей смеси элементов вторичной белковой структуры с преимущественным (до 60%) содержанием α - спиралей, а методом динамического светорассеяния - присутствие в растворе крупных (до 300 нм) наноразмерных частиц, что является характерным для МГТБ. Дальнейшее разделение методом ВЭЖХ дало ряд фракций с набором пептидов в каждой из них, что было показано методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Поскольку для исходной пептидсодержащей фракции на модели роллерного культивирования ткани печени тритона была показана тканеспецифическая биологическая активность, на данной модели было продолжено исследование отдельных ВЭЖХ-фракций. Исследовалось влияние МГТБ на состояние ткани печени и количество меланомакрофагов. Было показано, что некоторые фракции влияют на увеличение количества пигментированных клеток в ткани культивируемой печени тритона, также подобной активностью обладает объединенная после разделения на ВЭЖХ пептидная фракция. Объединение ВЭЖХ-фракций проводилось в рамках проверки гипотезы о наличии модулирующего действия одного из компонентов исследуемой пептидсодержащей фракции. В результате, кроме тканевой специфичности биологической активности отдельных ВЭЖХ-фракций, было впервые продемонстрировано наличие в составе биорегулятора, выделенного из ткани беспозвоночных животных компонента, модулирующего биологическую активность пептидов.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ГИБРИДНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ БЕЛКОВ VP6 И VP8 РОТАВИРУСА ЧЕЛОВЕКА ГРУППЫ А

Богомолова Е.Г., Духовлинов И.В., Федорова Е.А., Симбирцев А.С.

ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

bogomolovaele@inbox.ru

Ротавирусная инфекция является основной причиной возникновения тяжелой диареи, приводящей к дегидратации организма у младенцев и детей младше пяти лет. В России заболеваемость ротавирусной инфекцией неуклонно растет, что объясняется как увеличением числа случаев инфицирования, так и совершенствованием способов диагностики данного заболевания. Ввиду отсутствия препаратов с прямым противоротавирусным действием, лечение данного заболевания сводится лишь к минимизации последствий дегидратации организма. Самым эффективным способом профилактики ротавирусной инфекции считается своевременная вакцинация. Существующие противоротавирусные вакцины основаны на живых аттенуированных штаммах ротавируса человеческого и/или животного происхождения, размножающиеся в кишечнике человека, что может приводить к развитию различных осложнений. Использование вакцин на основе рекомбинантных белков позволяет избежать рисков, связанных с введением вируса в организм, пусть и аттенуированного. Создание кандидатной вакцины в этой работе осуществлялось на основе рекомбинантных белков, являющихся активными агентами при развитии протективного иммунитета против ротавируса.

Целью работы являлось изучение иммуногенности гибридных рекомбинантных белков - белка на основе капсидных белков VP6 и VP8 ротавируса, а также белка, дополнительно к фрагментам VP6 и VP8 содержащего компоненты флагеллина FliC *Salmonella typhimurium*. Белки VP6 и VP8 являются активными агентами при развитии протективного иммунитета против ротавируса. Флагеллин является одним из наиболее перспективных и хорошо изученных адъювантов нового поколения.

В ходе работы разработан метод очистки синтезируемых с использованием штаммов-продуцентов гибридных рекомбинантных белков на основе клеток *E.coli* BL21(DE3), заключающийся в последовательном применении иммобилизованной металлоаффинной хроматографии в денатурирующих условиях и гель-фильтрации в нативных условиях. Продемонстрировано, что белки VP6VP8 и FliCVP6VP8 обладают иммуногенностью у мышей линии Balb/c, вызывая формирование высокого титра специфических антител в сыворотке крови при подкожном введении. Белок FliCVP6VP8 вызывал образование высокого титра антител (1:128000) уже после второй иммунизации за счет наличия фрагмента флагеллина в составе гибридного белка. В экспериментах *in vitro* показано, что антитела, формирующиеся в

ответ на введение белков VP6VP8 и FliCVP6VP8, являются нейтрализующими. Планируется детально изучить механизм, посредством которого формируется иммунный ответ на вводимые белки и перспективу их использования в кандидатной вакцине от ротавируса.

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСА И ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКСПРЕССИИ КЛЕТКАМИ EGFP, НА СЕКРЕЦИЮ ЦИТОКИНОВ *IN VITRO*

Гатина Д.З., Лайков А.В., Гаранина Е.Е., Романова Ю.Д., Салафутдинов И.И.
ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

sal.ilnur@gmail.com

Аденовирусы широко представлены в человеческой популяции и насчитывают около 100 серотипов. Как правило, они вызывают легкие формы заболеваний, однако в некоторых случаях могут быть причиной серьезных осложнений. Кроме того, аденовирусы являются перспективными системами для доставки различных терапевтических генов, проведения иммунизации и т.д. С этой целью создаются и разрабатываются рекомбинантные аденовирусы.

В представленной работе нами анализировался рекомбинантный репликативно-дефектный аденовирус человека пятого серотипа экспрессирующий ген усиленного зеленого флуоресцирующего белка (Ad5-EGFP). Очищенные вирусные частицы лизировали, разделяли в полиакриламидном геле и окрашивали раствором Кумасси. Отдельные белковые полосы вырезали из геля и подвергали гидролитическому расщеплению трипсином. Пептидные экстракты разделяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием нанохроматографа UltiMate 3000 Nano LC (Thermo Scientific), получение МС-скана проводили на масс-анализаторе MaXis impact (Bruker). Анализ результатов проводили в программе Mascot (Matrix Science).

В ходе анализа был установлен протеомный профиль Ad5-EGFP, в частности были выявлены белки капсида (гексон рII, основание пентона рIII, фибер рIV), коровые белки (основной коровый белок рV, белок рVII, ДНК терминальный белок, L1 52kDa белок, протеаза) и минорные белки (капсид белок-предшественник рIIIa, капсид белок-предшественник рVI, капсид белок-предшественник рVIII, белок капсида рIX).

На втором этапе работы мы проводили оценку влияния трансдукции Ad5-EGFP на секретомный профиль стволовых клеток из жировой ткани человека (ADSC) с применением технологии xMAP (Luminex). Трансдуцированные ADSC экспрессировали EGFP, и секретировали IL-6, IL-10, TNF-alpha, IL-1-beta и IL-4, при этом, мы не обнаружили отличий в секреции исследованных цитокинов между нативными и генетически модифицированными клетками.

РАЗРАБОТКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ИСКУССТВЕННЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА

Гомзикова М.О., Ризванов А.А.

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

Albert.Rizvanov@kpfu.ru

Многообещающим инструментом стимуляции регенерации является клеточная терапия клетками человека. Известно, что основной положительный эффект на процесс ангиогенеза связывают со способностью трансплантированных клеток к воздействию на клетки микроокружения посредством межклеточной коммуникации с образованием микровезикул. Показано, что микровезикулы содержат различные биологически активные молекулы, которые они способны доставлять в другие клетки. Таким образом, микровезикулы представляют собой естественные вектора организма.

Однако, количество естественно выделяемых клеткой микровезикул невелико, поэтому получение искусственных микровезикул клеток человека в достаточном для терапевтического применения количествах явилось целью нашей работы.

В качестве модели для разработки эффективной и биобезопасной терапевтической системы на основе искусственных микровезикул клеток человека были выбраны клетки с высоким потенциалом к стимуляции ангиогенеза, способные к неконтролируемому делению – опухолевые клетки (подобно нативным или генетически модифицированным мезенхимным стволовым клеткам, которые в результате продолжительного культивирования/генетической модификации обладают повышенным риском онкологической трансформации). С целью получения большего количества микровезикул, клетки-доноры были простимулированы - обработаны веществом, нарушающим структуру цитоскелета (цитохалазин В), что позволило далее с помощью серии центрифугирований отделить микровезикулы от целых жизнеспособных клеток.

Впервые было показано, что искусственные микровезикулы, полученные из клеток SH-SY5Y, проявляют проангиогенное действие *in vitro* (формирование капилляро-подобных структур HUVECs) и *in vivo* (подкожное введение крысам *Rattus norvegicus*). Проангиогенное действие клеток SH-SY5Y в сравнении с искусственными микровезикулами в условиях *in vivo* оказалось сильнее ($1,5 \pm 0,23$ сосудов на единицу площади среза против $0,83 \pm 0,02$). Это связано с тем, что искусственные микровезикулы не способны к делению и осуществляли только доставку, заключенных в них биомолекул. В то же время, проангиогенное действие искусственных микровезикул *in vitro* оказалось сравнимо с эффектом, индуцированным клетками SH-SY5Y ($43,5 \pm 3,53$ разветвления капилляро-подобной сети против $41,33 \pm 8,51$).

Таким образом, микровезикулы являются перспективными инструментами для доставки веществ и стимуляции ангиогенеза.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА TB10.4 MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS В КЛЕТКАХ ESHERICHIA COLI

Добровольская О.А., Федорова Е.А., Черняева Е.Н., Духовлинов И.В., Симбирцев А.С.

ФГУП Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

dobrovolskay-oly@yandex.ru

Основной причиной смерти от инфекционных и паразитарных заболеваний сегодня, как и в начале XX века, является туберкулез. В России ежегодно выявляется более 100 тысяч новых случаев туберкулеза, около 25 тысяч человек умирают от этого заболевания. Смертность от туберкулеза – это 70% смертей от всех инфекционных заболеваний.

Вакцина БЦЖ существует на протяжении 80 лет и является единственной профилактической вакциной против туберкулеза. Вакцина БЦЖ обладает доказанным защитным действием в отношении туберкулезного менингита и диссеминированного туберкулеза среди детей. Однако данная вакцина имеет ограниченное применение в отношении взрослой части населения, ее протективный эффект менее выражен относительно легочной формы заболевания, и ее защитная эффективность значительно ослабевает в течение 10-15 лет. Соответственно, на данный момент, разработка новых вакцин против туберкулеза с усовершенствованными свойствами является приоритетной задачей международного научно-исследовательского сообщества. Одним из направлений в разработке новых средств профилактики туберкулеза является создание субъединичных вакцин на основе рекомбинантных белков.

В последние годы активно изучался геном *Mycobacterium tuberculosis* и других микобактерий, с целью идентификации, производства и испытания новых антигенов. Наиболее изученными и перспективными для применения в качестве компонентов новых кандидатных вакцин, на данный момент, считаются белки, входящие в состав семейства ESAT-6 (Early Secret Antigen Target-6), среди которых наиболее изучен антиген CFP-7 или TB10.4. Данный белок распознается на ранней стадии туберкулезной инфекции и способствует пролиферации лимфоцитов, ответственных за продукцию интерферона γ (ИФН- γ).

Цель работы заключалась в получении рекомбинантного белка TB10.4 в экспрессионной системе клеток *E.coli* и последующей его очистке.

Нами была получена оптимизированная для высокой экспрессии в клетках *E.coli* нуклеотидная последовательность, кодирующая белок ТВ10.4. Создан вектор, несущий ген, кодирующий рекомбинантный белок ТВ10.4, на основе плазмиды рЕТ28a(+). Посредством трансформации клеток *E.coli* BL21(DE3) плазмидной ДНК методом электропорации был создан высокопродуктивный штамм *E.coli* – продуцент рекомбинантного белка ТВ10.4. Также был подобран протокол индукции экспрессии гена, кодирующего белок ТВ10.4, обеспечивающий высокий выход белка при наименьших затратах – индукция 0,1 мМ ИПТГ. Далее с использованием метода иммобилизованной металлоаффинной хроматографии был получен очищенный рекомбинантный белок ТВ10.4.

ПРОЛОНГИРОВАННАЯ ФОРМА ДОЦЕТАКСЕЛА КАК НОВЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Жунина О.А., Годованный А.В., Северин Е.С.

ОАО «Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения»,
Москва, Россия

olga_yarova@bk.ru

Один из подходов к лечению онкологических заболеваний – это применение препаратов растительного происхождения группы таксанов, в частности, доцетаксела. Доцетаксел широко применяют в комплексе с другими противоопухолевыми, гормональными и антигормональными препаратами при раке молочной железы, яичников, опухолях головы и шеи, раке желудка.

Ввиду токсичности доцетаксела, его применение обуславливает ряд побочных эффектов. Для решения вышеуказанной проблемы нами была разработана пролонгированная форма данного препарата путем его включения в субмикронные частицы сополимера гликолевой и молочной кислот (PLGA 50:50). Включение осуществлялось методом одинарного эмульгирования. Лекарственная форма представляла собой субмикронные частицы, имеющие размер 250-500 нм. В состав субмикронной частицы входили следующие компоненты: лекарственная субстанция доцетаксела, PLGA, стабилизатор, криопротектор.

Нами были проведены исследования цитотоксического действия полученной полимерной композиции на аденокарциноме молочной железы мыши линии Ca755 и аденокарциноме молочной железы человека линии MCF-7^{Wt}. Полученные результаты показали, что в отношении клеток линии Ca755 значения IC₅₀ для свободного доцетаксела и субмикронных частиц составили 1.03 и 0.95 нг/мл соответственно, что свидетельствовало о сохранении цитотоксической активности доцетаксела при его включении в состав полимерных частиц. Клетки линии MCF-7^{Wt} были более чувствительны к действию доцетаксела. Величины IC₅₀ для доцетаксела в составе полимера и лек.субстанции составили 0.097 и 0.057 нг/мл соответственно. Были проведены исследования активности полимерной композиции с доцетакселом на самках мышей с привитой аденокарциномой молочной железы. Действие препаратов оценивали по задержки роста опухоли. Полученные данные показали, что действие субмикронного препарата в дозе 10 мг/кг было эквивалентно действию лек.субстанции в дозе в 2 раза большей. Значимый эффект действия субмикронного препарата в дозах 10 и 20 мг/кг сохранялся более 23-х сут, а для субстанции доцетаксела он не превышал 17 сут в дозе даже 20 мг/кг.

Полученные результаты позволяют заключить, что полученная полимерная композиция обладает более высокой активностью и выраженным пролонгирующим действием по сравнению со свободным доцетакселом.

ВЛИЯНИЕ РНКАЗЫ *BACILLUS PUMILUS* НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК НИЗШИХ И ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ

Игтисамова Г.Р., Калачева Н.В., Черепнев Г.В.

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

7gulzada7@mail.ru

Митохондрии являются уникальными клеточными органеллами, отвечающими за энергетический обмен в организме. Митохондриальная дисфункция приводит к клеточной гибели и окислительному стрессу, вызывает нейродегенеративные заболевания и «митохондриальные болезни». Все лекарственные средства, действующие на митохондрии, делят на специфически тропные к митохондриям средства и препараты, влияние которых на митохондрии является побочным. Поиск и изучение веществ, модифицирующих функцию митохондрий, позволит создать новые лекарственные средства с заданными свойствами, а в случае проявления побочного действия - прогнозировать эти эффекты.

Объект настоящей работы - РНКазы *Bacillus pumilus* (биназа), которая наряду с другими РНКазами, привлекает внимание исследователей как потенциальный противоопухолевый препарат нового поколения.

В работе исследуется действие биназы на трансмембранный митохондриальный потенциал (Ψ_m) клеток дрожжей *Yarrowia lipolytica* и различных субпопуляций лейкоцитов крови человека методом лазерной проточной цитометрии.

Трансмембранный митохондриальный потенциал измеряли с помощью витального рациометрического катионного флуорохрома JC-1. В качестве протонифорного разобщителя окислительного фосфорилирования использовали карбоанилцианид-3-хлорфенилгидразон СССР.

Результаты наших исследований показали, что инкубация биназы с дрожжами сопровождается снижением доли клеток с активными митохондриями и уровнем митохондриального потенциала в них, что свидетельствует о деполяризации мембраны митохондрий под влиянием биназы. Эффект зависит от концентрации препарата.

Биназа избирательно влияет на трансмембранный митохондриальный потенциал Ψ_m субпопуляций лейкоцитов крови человека *ex vivo*: только у моноцитов регистрировали гиперполяризацию мембраны и увеличение трансмембранного потенциала после 15 минут инкубации с препаратом. Избирательное действие биназы, в частности, на апоптоз моноцитов было выявлено нами и в предыдущих исследованиях.

Изменение митохондриального потенциала в клетках дрожжей и моноцитах хорошо коррелирует с выдвинутой ранее гипотезой, согласно которой биназа, вследствие особенностей своей структуры, может нарушать проницаемость мембраны митохондрий.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АРЕНИЦИЕ-2 И КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫХ АНТИБИОТИКОВ

Калашников А.А., Болосов И.А., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

kalash23rus@mail.ru

Ключевой проблемой современной медицины стало массовое распространение лекарственной устойчивости среди патогенных микроорганизмов. Со временем патогены приобретают резистентность к используемым антибиотикам. При этом, штаммы с устойчивостью к антибиотикам не теряют вирулентности и могут становиться причиной массовых инфекций. Для успешной борьбы с резистентностью микроорганизмов к антибиотикам, требуется разработка и внедрение новых антимикробных препаратов. Однако внедрение новых антибиотиков связано с большими трудностями. Одной из распространенных причин устойчивости бактерий к антибиотикам, считается низкая проницаемость мембран для препаратов и способность микроорганизмов выводить препараты из клеток. Высокой мембранотропной активностью обладают антимикробные пептиды (АМП). Механизм действия

АМП связан с взаимодействием молекул пептида с бактериальной мембраной и дальнейшим образованием в ней пор. Один из путей преодоления возникновения резистентности заключается в совместном применении АМП и конвенциональных антибиотиков. Благодаря комбинированному использованию АМП и антибиотиков последние могут проникать внутрь клетки благодаря, образовавшимся, порам. В ходе работы было исследовано совместное антимикробное действие для Ареницина-2 и пяти конвенциональных антибиотиков, относящихся к различным классам – ампицилина, тетрациклина, стрептомицина, полимиксина и рифампицина. Ареницин-2 представляет собой β -шпилильный катионный пептид, выделенный из целоцитозов морского кольчатого червя *Arenicola marina*, обладающий широким спектром антимикробной активности. В качестве бактериальных тест-культур были использованы *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas Aeruginosa*. Оценку синергетического эффекта проводили путем вычисления Индекса Фракционных Ингибирующих Концентраций (FICI). $FICI = [A] / MIC_{Ca} + [B] / MIC_{Cb}$, где MIC_{Ca} и MIC_{Cb} – минимальные ингибирующие концентрации для индивидуальных веществ, а [A] и [B] – минимальные ингибирующие концентрации при совместном воздействии. Значение $FICI < 0.5$ показывает, что вещества находятся в синергизме. Для некоторых антибиотиков был показан синергический эффект.

ПОЛУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В НАНОАЭРОЗОЛЬНОЙ ФОРМЕ

Канев И.Л., Шляпникова Е.А., Морозов В.Н.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия
4kanev@gmail.com

Недавно разработанный новый метод генерации наноаэрозолей применён для получения ряда лекарственных средств в наноаэрозольной форме. Таким образом может быть осуществлена адресная доставка лекарств в глубокие отделы лёгких. Наноаэрозоли получали путём электрогидродинамического распыления растворов веществ с нейтрализацией образовавшихся сильно заряженных продуктов в газовой фазе противоионами, получаемыми электрораспылением с противоположного электрода. Преимуществами данного метода являются отсутствие термического воздействия на распыляемое вещество и возможность перевода в наноаэрозольную форму любой нелетучей субстанции. Ожидается, что наноаэрозольные формы лекарственных веществ будут иметь серьезные преимущества при лечении лёгочных болезней, при лёгочной вакцинации и в других биомедицинских применениях.

В работе получены наноаэрозольные формы ряда применяемых в современной медицине антибиотиков и цитостатических препаратов: метотрексата, циклофосфана, блеомицина, а также индометацина. Для генерируемого наноаэрозоля определены оптимальные условия электрораспыления, измерена концентрация и распределение частиц по размерам. Показано, что массовая концентрация частиц лекарства с размером 10 – 200 нм составляет не менее 0,5 мкг в литре воздуха при возможной скорости генерации до 8 л/мин.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО РЯДА «29D» - АНАЛОГА КСИМЕДОНА

Выштакалюк А.Б.¹, Китаева К.В.², Порфирьев А.Г.²

¹ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова,

²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

olleth@mail.ru

Введение. Синтезированный в 1966 году в ИОФХ им. А.Е. Арбузова препарат «ксимедон» хорошо показал себя в качестве стимулятора регенерации поврежденных тканей, а также способен оказывать и гепатопротекторное влияние. В связи с этим в ИОФХ им. А.Е. Арбузова ведется активная работа по созданию более эффективных аналогов этого препарата и изучению их гепатопротекторных свойств. Один из таких препаратов носит название 29D.

Цель – исследовать гепатопротекторную активность препарата «29D».

Задачи:

1. Создание модели токсического поражения печени у лабораторных крыс воздействием тетрахлорметана. 2. Исследовать структуру печени в процессе восстановления органа при влиянии препарата «29D». 3. Сравнить воздействие разных доз препарата «29D».

Материалы и методы. Экспериментальная часть исследования была проведена на 12 лабораторных крысах массой 250–400 г. У животных моделировали токсический гепатит путем подкожного введения раствора четыреххлористого метилена (CCl₄) в оливковом масле при объёмном соотношении 1:1. Крысы были разделены на 3 группы по 4 животных в каждой. В соответствии с методом, животным в течение 4 дней вводили гепатотоксин подкожно в дозе 2 мл/кг, индуцируя у них токсическое поражение печени. Затем в течение 5 дней – перорально вводили препарат «29D» двум группам в дозах по 20 мг/кг и 50 мг/кг. Контрольная группа животных вместо препарата получала воду. По окончании экспериментов от каждого животного забирался центральный фрагмент печени, затем этот материал исследовался методом гистологической техники.

Результаты и выводы. Показано, что препарат «29D» уменьшает тяжесть нарушений функции печени при токсическом воздействии CCl₄, но полностью не предотвращает ее токсического поражения.

При 20 мг/кг наблюдается значительное улучшение структуры печени вблизи печеночной триады с существенным восстановлением структуры ткани.

При дозе препарата в 50 мг/кг восстановление ткани продолжается, но зоны с жировым перерождением вблизи центральных вен остаются существенными по площади, что может быть объяснено небольшим сроком воздействия препарата «29D».

Полученные результаты говорят о возможности дальнейшего исследования гепатопротекторных свойств препарата «29D».

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕГУЛЯТОРНОГО ПЕПТИДА СЕЛАНК НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЁННЫХ В ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГАМКЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

**Коломин Т.А., Волкова А.П., Шадрина М.И., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф.,
Сломинский П.А.**

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

kotimur@img.ras.ru

Синтетический аналог природного иммуномодулятора тафцина селанк оказывает на организм воздействие, сходное с действием классических анксиолитиков бензодиазепинового ряда, механизм действия которых связан с работой ГАМКергической системы, и при этом не имеет характерных для них побочных эффектов. Это позволяет предположить, что в основе механизма действия селанка лежит его способность модулировать работу ГАМКергической системы на разных уровнях. Ранее была проведена оценка действия селанка и ГАМК на экспрессию 84 генов, вовлеченных в нейрорецепцию и регуляцию работы ГАМКергической системы в мозге крыс через 1 и 3 часа после введения данных соединений.

В результате анализа ПЦР-панели нами были отобраны 10 генов, уровень мРНК которых изменился более чем в 2 раза в ответ на введение селанка или ГАМК: *Adcy7*, *Cx3cl1*, *Gabra6*, *Gabrb1*, *Gabrb3*, *Gabre*, *Gabrq*, *Hcrt*, *Slc6a1*, *Slc6a11*. Мы провели детальную оценку профиля экспрессии этих генов через 1, 3, 6 и 24 часа после введения ГАМК, селанка и его короткого фрагмента Gly-Pro методом ПЦР в реальном времени. Для большинства генов профили изменения экспрессии совпадают на всех временных интервалах. Наблюдается наиболее выраженное изменение уровня мРНК генов, кодирующих некоторые субъединицы ГАМК-А рецептора: *Gabrq*, *Gabre* и *Gabra6*, а также гена *Hcrt*, кодирующего белок-предшественник нейропептидов орексина А и орексина В. Тем не менее, ГАМК и селанк не оказывают абсолютно идентичного действия на экспрессию исследуемых генов. Можно выделить несколько генов, для которых имеются существенные различия в уровне мРНК (*Gabra6*, *Gabrb1*, *Gabrb3*). Таким образом, можно сделать вывод о том, что селанк оказывает влияние на ГАМК-ергическую систему, подобное самой ГАМК, но в то же время обладает собственными эффектами.

ДОСТАВКА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Колоскова О.О., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.

ФГБОУ ВПО Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

c-221@yandex.ru

Использование пептидов в качестве ДНК связывающих доменов в составе амфифильных липидов для доставки генов является перспективным направлением создания невирусных систем доставки нуклеиновых кислот. Липопептиды, имеющие в структуре ди-, три- и тетрапептидные головные группы должны показывать высокую эффективность трансфекции, причем увеличение количества положительно заряженных аминокислотных остатков в полярной части должно способствовать повышению эффективности трансфекции.

В данной работе был синтезирован ряд алифатических производных пептидов, полярная часть которых сформирована остатками L-орнитина, L-лизина и L-глутаминовой кислоты, а гидрофобный домен представлен диэфирами L-глутаминовой. Синтетический подход для этих липидов включал, во-первых, приготовление диэфирного остова, содержащего различные по длине алкильные цепи, с последующим добавлением и наращиванием пептидной головной группы.

Физико-химические характеристики липосом изучали с использованием различных техник, включая определение температуры плавления, размера частиц. Для этих исследований липосомы готовили методом гидратации пленки с последующим озвучиванием и экструзией для получения монодисперсных липосомальных частиц. Температура фазового перехода определялась только строением гидрофобного домена и для дигексадециловых эфиров составила около 40°C. Размер частиц уменьшался с увеличением полярной части от 150нм для дипептидов до 70нм для тетрапептидов.

Для определения эффективности переноса нуклеиновых кислот синтезированными липопептидами провели ряд экспериментов на клеточных линиях HEK293T, A549, CHO, Raji. Было показано, что наибольшая эффективность трансфекции наблюдается при использовании алифатических производных трипептидов и она сопоставима с коммерческим аналогом липофектаминоном.

Для отобранного липопептида были проведены токсикологические исследования *in vitro* и *in vivo*. Результаты МТТ теста показали, что $IC_{50}=7\text{мкг}$, мыши набирали вес (на 5-10% больше по сравнению с контрольной PBS группой) после введения им липосомальной дисперсии внутрибрюшино.

Таким образом, в результате работы получен низкотоксичный высокоэффективный препарат для доставки нуклеиновых кислот в клетки на основе алифатического производного трипептида.

УЛУЧШЕННАЯ ВАКЦИНА ОТ ГЕМОФИЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Кривых П.О.¹, Власов П.К.²

¹ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²Centre for Genomic Regulation and Universitat Pompeu Fabra, Барселона, Испания

krivых.polina@gmail.com

Гемофильная инфекция представляет серьезную опасность для всего мира из-за многочисленных возникающих осложнений. Ежегодно она уносит жизни 17% детей младше пяти лет по всему миру (около 400 000 человек).

Борьба с гемофильной инфекцией осложнена несколькими обстоятельствами:

PS капсула гемофильной палочки (вызывает реакцию на уровне рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2) препятствует бактериолизу, что затрудняет спецификацию Т и В-лимфоцитов;

гемофильная палочка выделяет экзотоксин протеазу, разрушающую SIgA;
• дети младше пяти лет не способны сформировать адекватный иммунный ответ без участия Т-лимфоцитов.

Проблему высокой смертности от гемофильной инфекции можно решить лишь массовой вакцинацией. Все существующие вакцины действуют по принципу стимуляции иммунного ответа за счет естественных (патогенных) компонентов, которые чрезвычайно дороги. Поэтому вакцины недоступны развивающимся странам, которые больше всего в них нуждаются.

Я предлагаю проект вакцины, которая будет действовать по принципу стимуляции клеточного иммунного ответа (как и уже используемые вакцины), усиливая его за счет дополнительных компонентов (иммуногенные пептиды и низкомолекулярные вещества) в комплексе с липополисахаридом оболочки гемофильной палочки. Дополнительные компоненты предлагается подбирать, исходя из их целевого действия на нужный каскад иммунных реакций.

Состав вакцины:

Химерный конъюгат из обычных антигенных детерминант бактерии (участка LP капсулы) и дополнительных антигенных детерминант.

Прикрепить обычные и дополнительные антигенные детерминанты на специальный носитель – липосому.

Проект находится на стадии утверждения веществ - показавших хорошие перспективы модуляции иммунного ответа в теоретических расчётах - для проверки на клеточных линиях. Достигнута предварительная договоренность с С.А. Недоспасовым, д. б. н., зав. отделом молекулярной иммунологии в Институте физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, о проведении экспериментальной части проекта.

РЕКОМБИНАНТНЫЕ ТАНДЕМНЫЕ ГИСТОНЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ДНК В КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Кузьмич А.И.¹, Введенский А.В.², Зиновьева М.В.²

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, ²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

akrubik@gmail.com

Генотерапия является одним из перспективных направлений в создании противоопухолевых препаратов. Ключевой проблемой в генотерапии остается доставка терапевтических генов в целевые клетки. Существуют различные системы генетической доставки, но рекомбинантные белки выделяются в силу биобезопасности, низкой иммуногенности и простоты введения различных модификаций. Ранее было показано, что как гистон H2A, так и его N-концевой фрагмент (первые 37 а.о.) способны обеспечивать доставку ДНК в клетки млекопитающих. При этом tandemные белки, содержащие несколько N-концевых фрагментов гистона H2A, демонстрировали лучшее связывание с ДНК. Целью данной работы стало получение рекомбинантного tandemного гистона H2A и его модифицированных вариантов, способных доставлять ДНК в клетки млекопитающих.

Нами была получена последовательность, кодирующая tandemный гистон T-H2A, содержащий 4 N-концевых фрагмента гистона H2A, связанных олигоглицидовыми линкерами. Также была получена последовательность, кодирующая tandemный гистон T-H2A-RGD10, дополнительно несущий последовательность пептида RGD10 на C-конце. Описано, что такой пептид способен селективно связываться с интегринами alpha-v beta-3, часто обнаруживаемыми на поверхности клеток опухолей и опухолевого окружения.

Рекомбинантные белки T-H2A и T-H2A-RGD10 были получены в бактериальной системе, после чего очищены путем двух последовательных хроматографий. Двумя методами (изменение подвижности ДНК при электрофорезе в агарозном геле и вытеснение SYBR green) было показано, что оба полученных белка способны связывать плазмидную ДНК.

Была изучена способность tandemных гистонов обеспечивать доставку ДНК в клетки (трансфекцию). Для исследования трансфекционной активности комплексами tandemных гистонов с плазмидной ДНК, несущей ген люциферазы, трансфицировали клетки линии фибросаркомы человека (HT1080), после чего определяли люциферазную активность. Для сравнения клетки трансфицировали Lipofectamine 2000 (LFA). Было показано, что оба tandemных гистона способны трансфицировать клетки HT1080 практически с одинаковой

эффективностью, в то же время люциферазная активность при трансфекции с помощью LFA была значительно выше (в десятки раз больше).

Полученные результаты указывают на то, что система генетической доставки на основе тандемного гистона Т-Н2А может являться перспективной платформой в различных генотерапевтических приложениях, но требует дальнейшей оптимизации.

Работа выполнена в рамках проекта: РФФИ, грант № 15-04-04589.

ЭФФЕКТЫ КАРОТИНОИДОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Лашманова Е.А.

ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

ekaterinalashmanova@yandex.ru

Во все эпохи человечество проявляло большой интерес к способам увеличения продолжительности жизни и замедления старения. В настоящее время старение рассматривается как процесс постепенного нарушения и потери важных функций организма. Перспективным направлением является поиск веществ, способных тормозить развитие деструктивных нарушений, замедлить старение и тем самым увеличить продолжительность жизни. Полагают, что такие препараты осуществляют свое действие путем влияния на гены и генные сети. Ранее нами было выявлено положительное влияние растительных пигментов каротиноидов на продолжительность жизни и стрессоустойчивость *Drosophila melanogaster*. Известно, что каротиноиды обладают антиоксидантными свойствами и могут оказывать влияние на сигнальные пути и экспрессию отдельных генов. Актуальность исследования гетеропротекторных свойств каротиноидов определяется также тем, что данные вещества широко распространены в природе и поступают в организм человека с растительной пищей.

Целью нашей работы было выявить эффекты фукоксантина и β -каротина на параметры продолжительности жизни особей *Caenorhabditis elegans* дикого типа N2. Нематод культивировали в жидкой среде при 20°C. В среду культивирования добавляли чистые препараты фукоксантина и β -каротина (Sigma) в концентрациях 0.3, 0.5, 0.7, 1 и 5 мкМ. Фукоксантин дополнительно исследовали в концентрации 10 мкМ. Проведено два независимых эксперимента. Для каждой концентрации использовали в среднем 50-70 червей. Подсчет живых особей производили 2-3 раза в неделю. Данные обрабатывали статистически с применением критериев Гехана-Бреслоу-Вилкоксона и Мантеля-Кокса для медианной продолжительности жизни, критерия Ванг-Аллисона для 90%-ной гибели особей и критерия Колмогорова-Смирнова для сравнения кривых выживаемости.

Установлено, что фукоксантин в концентрации 5 мкМ увеличивал среднюю и максимальную продолжительность жизни нематод на 12.3 % ($P < 0.001$) и 24 % ($P < 0.01$) соответственно. β -каротин не повлиял на параметры продолжительности жизни ни в одной из исследованных концентраций, вероятно вследствие его низкой растворимости в среде культивирования.

Таким образом, нами выявлено, что фукоксантин оказывает положительное влияние на показатели продолжительности жизни *Caenorhabditis elegans*.

**ДОСТАВКА В ОБЛАСТЬ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ
МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА,
ТРАНСДУЦИРОВАННЫХ РЕКОМБИНАНТНЫМИ АДЕНОВИРУСАМИ С
КЛОНИРОВАННЫМИ ГЕНАМИ VEGF И GDNF УЛУЧШАЕТ СТРУКТУРНЫЕ
И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ**

Мухамедшина Я.О., Санатова Э.Р., Галиева Л.Р., Гаранина Е.Е.
ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт
фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

yana.k-z-n@mail.ru

На модели дозированной контузионной травмы спинного мозга крысы на уровне Th8 изучено влияние клеточно-опосредованной доставки в область повреждения рекомбинантных аденовирусов с генами сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и глиального нейротрофического фактора (GDNF) на структурные и функциональные показатели.

Работа выполнена на 20 лабораторных крысах, самках и самцах, весом 200-250 г. Животным опытной группы после дозированной контузионной травмы спинного мозга на уровне Th8 немедленно инъецировали мононуклеарные клетки крови пуповины человека (МККП), трансдуцированные AdV-VEGF и AdV-GDNF, по описанному ранее методу [Мухамедшина Я.О. и др. Доставка рекомбинантного аденовируса с клонированным геном GDNF в область травмы спинного мозга при помощи клеток крови пуповины человека стимулирует восстановление двигательной функции и поддерживает популяцию глиальных клеток // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2013. 8(3). С. 129-132.]. Крысам контрольной группы инъекцию клеток не проводили. Через 30 суток после операции осуществляли забор материала с последующим анализом площади деструкции серого и белого вещества. Для анализа восстановления двигательной функции использовали поведенческий тест «ВВВ».

Показатель восстановления двигательной функции в опытной группе животных возрастает в 2,2 раза при сравнении с соответствующим показателем у крыс контрольной группы. На 30 сутки в контрольной группе животных в области нанесения контузионной травмы на продольных срезах наблюдается центральная зона полностью дезинтегрированной ткани, имеющей вид обширной полости размерами 3,5×2,5 мм с рассеянными в ней фрагментами дегенерирующих клеток. Стенка полости выстлана глиоцитами, снаружи от которых, не образуя сплошного слоя, присутствуют фибробластоподобные клетки. В опытной группе животных на том же сроке после операции и инъекции МККП+ AdV-VEGF+AdV-GDNF структура ткани в области нанесения травмы более сохранна. Здесь отмечено обилие микрополостей, разделённых прослойками соединительной ткани. Однако, на расстоянии 0,5-2 мм от эпицентра травмы признаки деструкции более выражены, присутствуют полости размерами 1,5×1,5 мм, отсутствуют четкие границы между серым и белым веществом.

Трансплантация в область травмы спинного мозга крысы МККП+ AdV-VEGF+AdV-GDNF улучшает восстановление двигательной функции и приводит к уменьшению объема поврежденной ткани. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-04-31246_мол_а.

**РЕДОКС-ЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС С
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ
ЦИТОСТАТИКОВ ПО СХЕМЕ CAP**

Насырова Е.Ю., Долгова Д.Р., Абакумова Т.В., Генинг С.О., Михеенко А.А.
ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный университет, Ульяновск, Россия

nasyrov2003@list.ru

Химиотерапия является вторым основным компонентом лечения рака яичников. Образующиеся при этом активные формы кислорода вызывают токсическое повреждение органов и тканей. Кроме того, химиотерапия проводится у больных с уже активированными неоплазией свободнорадикальными процессами [Антонеева И.И., 2010]. Целью исследования было изучение редокс-зависимых процессов в плазме крови крыс с экспериментальной

асцитной опухолью яичников (АОЯ) при введении цитостатиков по схеме CAP. В плазме крови 120 белых беспородных крыс с АОЯ (банк штаммов РОНЦ им. Н.Н.Блохина, через 3 и 8 дней после введения препаратов в режиме CAP (цисплатин 50 мг/м², доксорубин 50 мг/м², циклофосфан 500-750 мг/м²) внутривенно оценивали окислительную модификацию белков (ОМБ) по Е.В.Дубининой и продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) по И.А.Волчегорскому и по А.И.Андреевой. Статистический анализ данных проводился с помощью пакета прикладных программ (Statistica 6). Установлена значимая активация ОМБ и повышение уровня кетодиенов (КД) в плазме крови животных-опухоленосителей по сравнению с интактными животными. При этом содержание альдегидных групп нейтрального характера составило 4,956±0,326 ед/мг белка против 2,330±0,517 ед/мг белка в контроле, кетонных групп нейтрального характера составило 4,333±0,796 ед/мг белка против 1,802±0,404 ед/мг белка в контроле, карбонильных производных основного характера составило 0,825±0,104 ед/мг белка против 0,124±0,049 ед/мг белка в контроле. Повышение уровня продуктов ОМБ может свидетельствовать о возникновении карбонильного стресса у животных с АОЯ. Из всех изученных параметров ПОЛ достоверным было возрастание уровня КД (0,108±0,014 ед.опт.плот./мл против 0,099±0,018 ед.опт.плот./мл в контроле). При введении химиопрепаратов по схеме CAP резко и значимо возрастала через 3 дня после введения в плазме крови животных-опухоленосителей активность каталазы (0,209±0,071 ммоль/мин/л против 0,117±0,071 ммоль/мин/л) и уровень продуктов ПОЛ (КД 0,161±0,037 ед.опт.плот./мл против 0,108±0,014 ед.опт.плот./мл в контроле, оснований Шиффа 0,052±0,010 ед.опт.плот./мл против 0,013±0,002 ед.опт.плот./мл в контроле). Через 8 дней после введения повышается уровень МДА (8,003±1,219 мкмоль/л против 5,105±1,688 мкмоль/л в контроле). Полученные результаты позволяют предполагать возникновение состояния окислительного и карбонильного стресса у животных с экспериментальным раком яичников. Введение химиопрепаратов по схеме CAP вызывает у животных с АОЯ через 3 дня после введения усиление оксидативного стресса. Работа поддержана гос. заданием МИНОБРНАУКИ России

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПРИ ОТРАВЛЕНИЕ ФОС НА IN VIVO МОДЕЛЯХ

**Паликов В.А.¹, Паликова Ю.А.¹, Смирнов И.В.², Дьяченко И.А.³,
Жармухамедова Т.Ю.⁴, Мурашев А.Н.³**

¹ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград;
²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ³Филиал Института биоорганической химии им.
академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ⁴ФГБОУ ВПО Пущинский
государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

viktorpalikov@mail.ru

Бутирилхолинэстераза (БуХЭ) обладает способностью стехиометрически связывать токсины, ингибирующие ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Это делает человеческую БуХЭ очень актуальным предметом для изучения в качестве биологической при отравлениях фосфорорганическими соединениями (ФОС). ФОС являются необратимыми ингибиторами холинэстераз, ацетилхолинэстеразы, и бутирилхолинэстеразы. АХЭ играет главную роль в холинергической системе, завершая действие ацетилхолина. Основной причиной острой токсичности ФОС является необратимое ингибирование АХЭ.

В отличие от плазмы мышей, плазма крови человека не содержит карбоксилэстеразы которая является важным эндогенным ферментом, участвующем в детоксикации ФОС.

В нашей биомодели в качестве ФОС был использован параоксон. Чтобы максимально снизить фоновую активность эндогенной карбоксилэстеразы у мышей линии BALB/c был использован ингибитор крезилбензодиоксафосфориноксид (CBDP) в дозе 1,5 мг/кг, который полностью подавлял действие данного фермента.

Исследование условно было разделено на 2 этапа:

На первом этапе группам мышей подкожно был введен СВDP, после чего через 30 минут внутривенно вводился параоксон в дозах 0,4; 0,5; 0,55; 0,6 мг/кг. Так же проводился клинический осмотр состояния для выживших животных.

В результате была выбрана доза параоксона 0,6 мг/кг для дальнейшего исследования, соответствие с которой погибало 100% животных. Подкожно был введен блокатор СВDP, затем через 15 минут мыши внутривенно получали БухЭ 1,5 мг на мышшь, после чего внутривенно вводился параоксон.

Результаты. Введение БухЭ мышам, получавшим летальную дозу параоксона, наблюдали 100% выживаемость мышей линии BALB/c.

Таким образом, проведено исследование протективной активности бутирилхолинэстеразы при отравление параоксоном на *in vivo* моделях. Показана высокая активность БухЭ.

ОСОБЕННОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ПОЛИПЕПТИДА РТ-1 В ИССЛЕДОВАНИИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

**Паликова Ю.А.¹, Паликов В.А.¹, Андреев Я.А.², Дьяченко И.А.³,
Жармухамедова Т.Ю.⁴, Мурашев А.Н.³**

¹ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград;

²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ³Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ⁴ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия

ulia2791@rambler.ru

Восприятие боли – важная способность организма, позволяющая избегать раздражителей и минимизировать наносимый ему вред. Используемые в настоящее время анальгетики характеризуются рядом недостатков, и ведущие исследовательские коллективы и фармацевтические компании заняты разработкой новых болеутоляющих средств. Источником новых мощных анальгетиков могут служить природные яды. Из Среднеазиатского паука-волка исследователи базовой кафедры МФТИ и ИБХ РАН выделили пуротоксин (РТ1) – пептид, ингибирующий один из важнейших подтипов болевых рецепторов человека.

Целью работы является изучение анальгетической активности рекомбинантного полипептида РТ-1 на мышцах CD-1. Анальгезирующее действие РТ-1 мы проверяли с помощью теста гиперчувствительности, спровоцированной СФА. Группам животных в заднюю лапу субплантарно вводили смесь СФА (полного адьюванта Фрейда) с 0,9% NaCl (1:1). Через 21 -24 часа после введения СФА экспериментальным животным подкожно вводили РТ-1 в дозах 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 мг/кг в соответствии с групповой принадлежностью, контрольным животным – 0,9% NaCl подкожно. Через 4 и 24 часа проводили испытание порога болевой чувствительности.

Результаты: При подкожном способе введения по результатам теста гиперчувствительности, спровоцированной СФА через 4 часа в дозах 0,001; 0,01 и 0,1 мг/кг были отмечены достоверные отличия между экспериментальными и контрольными группами. При тестировании через 24 часа достоверные отличия были отмечены в дозе 0,01 мг/кг.

Таким образом, проведено исследование анальгетической активности РТ-1 в тесте гиперчувствительности, спровоцированной СФА при подкожном введении РТ-1 в различных дозировках и тестированием в различные временные интервалы. Показана высокая фармакологическая активность РТ-1 в различных дозировках и различных временных точках.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СРG-ОДН В КАЧЕСТВЕ АДЬЮВАНТА В СОСТАВЕ ПРОТОТИПА ВАКЦИНЫ СИБИРЕЯЗВЕННОЙ ХИМИЧЕСКОЙ

Попова П.Ю., Семакова А.П., Степанов А.В.

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,
Саратов, Россия

rusrapi@microbe.ru

Составляющие основу разрабатываемой вакцины рекомбинантный протективный антиген (рПА) и белок S-слоя EA1 получены из сконструированного штамма *B. anthracis* в едином технологическом цикле, очищены и всесторонне охарактеризованы. Однако остается проблема поиска эффективного и безвредного адьюванта. К перспективным современным адьювантам относятся последовательности CpG, содержащие неметилованный мотив, присущий только бактериальной ДНК. Мы исходили из наибольшей привлекательности CpG 2006, ввиду использования в составе экспериментальных вакцин, допущенных до клинических исследований. Однако в доклинических испытаниях прослеживается избирательность в выборе CpG-ОДН для различных видов биомоделей, например, для экспериментов на линейных мышах чаще предлагаются CpG 1826 и CpG 1555. Чтобы оценить корректность результатов, полученных при применении сибиреязвенных иммуногенных антигенов с CpG 2006, провели сравнительную характеристику иммуностимулирующей активности различных CpG-ОДН - CpG 2006, CpG 1826 и CpG 1555. Мышей линии BALB/c иммунизировали однократно рПА с одним из вариантов CpG. Животным контрольной группы вводили рПА в сочетании с ДНК, не содержащей иммуностимулирующих мотивов – non CpG 2137. Значение ЛД₅₀ тест-штамма для биомоделей, иммунизированных рПА с CpG 2006 или CpG 1826, было выше почти в 40 раз по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы. При использовании в эксперименте CpG 1555 значение ЛД₅₀ тест-штамма превышало контрольное в 60 раз. Таким образом, все синтезированные CpG-ОДН, включая CpG 2006, обладали выраженной адьювантной активностью. На той же биологической модели изучали протективную активность препарата, содержащего рПА и CpG 2006, она оказалась почти в 7 раз выше, чем у рПА с адьювантом Фрейнда. При двукратной иммунизации морских свинок рПА с CpG 2006 отмечали выраженную выработку антител. Титры анти-ПА антител достигали максимума (1:16000) к 4 месяцам и оставались на стабильно высоком уровне (1:4000) следующие 5 месяцев. Патоморфологические исследования органов морских свинок, иммунизированных двукратно рПА в сочетании с EA1 и CpG 2006, не выявили каких-либо свидетельств повреждающего действия на клетки и ткани макроорганизма. На основании экспериментального исследования эффективности и безопасности препаратов, содержащих иммуногенные антигены и иммуностимулирующие мотивы ДНК, сделан вывод о перспективности использования синтетического адьюванта CpG 2006 в составе прототипа вакцины сибиреязвенной химической.

РАЗРАБОТКА ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ БОРЬБЫ С ВИРУСНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КРС

Потапович М.И., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

mpatapovich@mail.ru

Наибольший удельный вес в инфекционной патологии сельскохозяйственных животных приходится на болезни органов дыхания и пищеварения вирусной этиологии: инфекционный ринотрахеит, парагрипп-3, вирусная диарея и др.

В патологии взрослых особей КРС важное место занимают вирусы, относящиеся к семействам парамиксо-, корона-, герпесвирусов, поражающих главным образом респираторную систему. Некоторые вирусы, такие как возбудитель вирусной диареи и инфекционного ринотрахеита-вульвовагинита, являются мощнейшими депрессантами иммунной системы, что, в свою очередь, также является фактором развития патологий в хозяйствах.

В последние годы уделяется много внимания неспецифической резистентности организма животных. Немаловажную роль в этом играют интерфероны, осуществляющие широкие

контрольно-регулирующие функции, важнейшими из которых являются антивирусная, иммуномодулирующая, антипролиферативная и радиопротективная функции.

В качестве активных компонентов препарата выступают рекомбинантные белки бычьего альфа2- и гамма- интерферонов, получаемые биотехнологическим способом.

Накопление белков бычьего гамма- и альфа-интерферонов происходит в тельцах включения клеток *E. coli*. Разработана схема очистки рекомбинантных белков, включающая разрушение клеток штамма-продуцента и отделение фракции тельц включения, отмывку тельц включения, солюбилизацию тельц включения в буфере с гуанидинхлоридом или мочевиной, рефолдинг и хроматографическую очистку.

В ходе проведенных испытаний установлено, что препарат оказывает разностороннее благоприятное действие на различные физиолого-биохимические и иммунологические показатели, а также оказывает существенное иммуномодулирующее воздействие. Фармакокинетические показатели сохраняются на максимальном уровне на протяжении 24-48 часов после введения препарата и имеют дозозависимую зависимость по эффективности действия.

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НАСЕКОМЫХ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Потолицына Е.А., Тулин Д.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

gingeryhoro@gmail.com

Введение. В работе изучено действие пептидов аллоферон и аллостатин на иммунокомпетентные клетки человека. Аллоферон – пептид иммунной системы насекомых, полученный из личинок мух семейства *Calliphoridae*. Аллостатин – производное пептида аллоферона, полученное путем замены 2 аминокислот. Пептиды обладают противоопухолевым и противовирусным действием, основанным на стимуляции цитотоксических клеток иммунной системы. Эти данные были получены на моделях *in vivo* с использованием мышей. Однако молекулярные механизмы взаимодействия аллоферона и аллостатина с иммунной системой человека изучены мало.

Методы. Работа проводилась на мононуклеарах периферической крови человека и обогащённых популяциях Т-клеток и НК-клеток (естественные киллеры). Изменение функционального состояния НК-клеток в цитотоксическом тесте оценивалось по характеру экспрессии поверхностных маркеров и их цитотоксической активности. Исследованные на НК-клетках маркеры включают в себя лектиновые рецепторы, иммуноглобулин-подобные рецепторы киллеров(KIRs), естественные рецепторы цитотоксичности(NCRs), молекулы клеточной адгезии. В качестве мишеней использовались клетки линии K-562. На модели с активированными Т-клетками оценивалось влияние аллоферона и аллостатина на продукцию клетками цитокинов.

Результаты. Получены данные о стимулирующем влиянии аллоферона и аллостатина на лимфоциты периферической крови человека. В опытах с поликлональной активацией Т-клеток аллоферон и аллостатин значительно усиливали продукцию лимфоцитами IFN- γ и IL-2. Так же наблюдалось усиление экспрессии активационных маркеров CD69 и CD25 Т-клетками. В цитотоксическом тесте аллостатин и аллоферон вызывают изменения характера экспрессии поверхностных маркеров на НК-клетках.

Вывод. Пептиды иммунной системы насекомых и их производные могут быть использованы в качестве средств стимуляции противоопухолевого иммунитета человека.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

**Рошин А.О.¹, Куликова О.Г.¹, Мальцев Д.И.¹, Ильина А.П.¹, Ямсков И.А.¹,
Ямскова В.П.²**

¹ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН,

²ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

antonmfm@gmail.com

Среди широкого спектра биологически активных веществ, выделенных из тканей млекопитающих и растений, можно выделить мембранотропные гомеостатические тканеспецифические биорегуляторы (МГТБ). Биорегуляторы данной группы локализованы в межклеточном пространстве тканей. Активность МГТБ проявляется при их действии в малых концентрациях. Биорегуляторы данной группы стимулируют восстановительные и репаративные процессы *in vivo*, оказывают протекторное действие на клетки при культивировании *in vitro*. В состав МГТБ входят биологически активные пептиды, а также белки-модуляторы, влияющие на активность пептидов.

Целью работы являлось изучение гепатопротекторных свойств растительных пептидов, действующих в малых концентрациях, и входящих в состав МГТБ лекарственных растений.

В качестве объектов исследования были выбраны лекарственные растения: укроп пахучий (*Anethum graveolens* L.), зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.), полынь горькая (*Artemisia absinthium* L.), чистотел большой (*Chelidonium majus* L.).

Для выделения растительных пептидов получены водно-солевые экстракты изучаемых растений, которые в дальнейшем подвергались 100% насыщению серноокислым аммонием, в ходе чего произошло образование фракции осадка и надосадочной жидкости (супернатанта). На основании ранее полученных данных по изучению МГТБ, а также на основе проведенного MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа фракций супернатантов и осадков, для дальнейшего изучения выбраны только пептидные фракции (супернатантов). Изучаемые фракции были исследованы методами белкового SDS-электрофореза в полиакриламидном геле, а также обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с последующим MALDI-TOF масс-спектрометрическим анализом, который показал наличие в данных фракциях низкомолекулярных составляющих, со значением молекулярных масс в области значений от 250 до 9000 Да.

С целью изучения гепатопротекторных свойств полученных пептидсодержащих фракций была применена модель роллерного органотипического культивирования печени тритона *in vitro*. Оценка проявляемого гепатопротекторного действия проводилась путём определения площади кластеров пигментированных клеток в ткани, изменение которой отражает способность ткани печени амфибий реагировать на повреждающие воздействия. После 3-х дневного культивирования ткани печени тритона при воздействии растительных пептидов в малых концентрациях (10-8 мг белка/мл) были обнаружены кластеры пигментированных клеток, площадь которых превышала их площадь как в контрольной, так и в нативной тканях ($p < 0,05$). Отмечалось также поддержание структуры ткани в опытных сериях (сохранение межклеточных адгезионных взаимодействий, выраженная активность зоны кроветворения, пигментированные клетки собраны в крупные кластеры). На той же модели было проведено сравнительное исследование действия пептидов, полученных из чистотела в высоких концентрациях (10-2 мг белка/мл) и в малых концентрациях. При воздействии высоких концентраций в ткани наблюдалось протекание процессов ее деградации, а площадь пигментированных клеток статистически достоверно была меньше контроля ($p < 0,05$). При действии пептидсодержащих фракций в малых концентрациях, наблюдался обратный эффект: отмечалось поддержание структуры ткани, а площадь кластеров пигментированных клеток статистически достоверно превышала их площадь как в контрольной, так и в нативной тканях ($p < 0,05$).

В результате исследования из ряда лекарственных растений были получены биологически активные только в малых концентрациях (10-8 - 10-15 мг/мл) пептидные компоненты растительных МГТБ (250-9000 Да). Полученные данные свидетельствуют о проявлении пептидами гепатопротекторных свойств, которыми обладают растения – источники выделения пептидов.

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ (LQGV, AQGV, VLPALP) НА ПРОДУЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА-17 (IL-17A) Т-ХЕЛПЕРАМИ

Рябова Ж.В.¹, Заморина С.А.²

¹ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, ²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,
Пермь, Россия

jannarybova92@gmail.com

Исследуемые олигопептиды (LQGV, AQGV, VLPALP) являются фрагментами первичной структуры β -субъединицы хорионического гонадотропина (ХГ). Эти пептиды проявляют выраженные противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты и рассматриваются как потенциальные терапевтические средства. Представлялось важным изучить влияние этих олигопептидов на продукцию провоспалительного цитокина - интерлейкина-17 (IL-17A). IL-17A синтезируется Т-хелперами 17 (Th17), которые ассоциированы с воспалительными и аутоиммунными заболеваниями. Таким образом, целью работы является оценка влияния олигопептидов (LQGV, AQGV, VLPALP) на продукцию IL-17A Т-хелперами (CD4⁺-клетки), индуцированными в фенотип Th17.

Объектами исследования являлись CD4⁺-лимфоциты, выделенные методом иммуномагнитной сепарации из периферической крови женщин. Синтетические олигопептиды LQGV, AQGV, VLPALP («АТГ Сервис ген») применяли в терапевтических концентрациях 1 мкг/мл и 20 мкг/мл. CD4⁺-лимфоциты инкубировали в полной питательной среде (ППС) с олигопептидами (72 ч; 37⁰С; 5%CO₂), индукция формирования Th17 осуществлялась цитокинами IL-1 β и IL-6. Помимо этого, в ППС добавляли магнитные частицы anti-CD3/CD28 «Invitrogen», анти-IFN- γ и анти-IL-4 антитела (10 мкг/мл), «eBioscience». В супернатантах оценивали уровень IL-17A иммуноферментным методом («Вектор-Бест»). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием парного t-критерия Стьюдента.

Установлено, что олигопептиды (LQGV, AQGV, VLPALP), вне зависимости от дозы, снижали продукцию IL-17A в культуре CD4⁺-лимфоцитов, индуцированных в фенотип Th17. Важно отметить, LQGV в высокой концентрации (20 мкг/мл) подавлял продукцию IL-17A достоверно эффективней, чем в низкой концентрации (1 мкг/мл). Известно, что молекула ХГ также снижает функциональную активность Th17, однако ХГ воздействует на клетки через ЛГ/ХГ-рецептор, а регуляторные пептиды могут при помощи эндоцитоза проникать непосредственно в клетки и взаимодействовать с транскрипционными факторами. Важно отметить, что олигопептиды β -субъединицы ХГ, оказывая аналогичный ХГ угнетающий эффект на продукцию IL-17A, не будут вызывать нежелательных эффектов на уровне репродуктивных тканей.

Таким образом, исследуемые олигопептиды (LQGV, AQGV, VLPALP) угнетают продукцию провоспалительного цитокина IL-17A, что позволяет рассматривать их в качестве терапевтических средств для лечения заболеваний, связанных с повышенной активностью Th17.

ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА И СОПОЛИМЕРА 2,5-ДИГИДРОКСИБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ С ЖЕЛАТИНОМ НА МИГРАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

**Снигирева А.В.¹, Врублевская В.В.¹, Лисов А.В.², Моренков О.С.¹,
Леонтьевский А.А.²**

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Россия

snigireva.s@gmail.com

Недавно мы показали, что сополимер 2,5-дигидроксибензойной кислоты и желатина (2,5-ДГБК-желатин) обладает мощной противовирусной активностью в отношении ряда альфагерпесвирусов, блокируя связывание вирусов с гепарансульфатами (ГС) плазматической клеточной мембраны. Механизм действия сополимера 2,5-ДГБК-желатин был сходен с

механизмом действия гепарина, также обладающего противовирусной активностью. Мы также обнаружили снижение мембранной экспрессии двух изоформ белка теплового шока 90 (Hsp90), Hsp90-alpha и Hsp90-beta, при обработке клеток гепарином, что указывало на роль клеточных ГС в связывании Hsp90 с клеточной мембраной. С учетом того, что мембрана-ассоциированный Hsp90 играет важную роль в процессах, связанных с миграцией и инвазией клеток, мы предположили, что гепарин, а также 2,5-ДГБК-желатин, могут оказывать влияние на процессы миграции клеток. Целью нашего исследования явилось изучение влияния гепарина и сополимера 2,5-ДГБК-желатин на миграцию опухолевых клеток фибросаркомы (HT1080) и глиобластомы (A-172) человека *in vitro*.

Сополимер 2,5-ДГБК-желатин получали с помощью фермента лакказы. Влияние гепарина и 2,5-ДГБК-желатин на миграцию клеток *in vitro* оценивали с использованием двух методов: Wound healing assay (оценивали скорость застывания экспериментальной раны на монослой клеток) и проникновение клеток через барьер в виде полиэтилентерефталат мембраны. Гепарин и 2,5-ДГБК-желатин не обладали цитотоксичностью и не влияли на пролиферацию клеток вплоть до концентрации 1 мг/мл. Гепарин ингибировал миграцию клеток HT1080 и A-172 на 50-65%; максимальный эффект достигался при концентрации гепарина 20 мкг/мл. Препарат 2,5-ДГБК-желатин при концентрации 50 мкг/мл снижал миграцию клеток HT1080 и A-172 на 44-62% и 35-50%, соответственно. С использованием проточной цитофлуориметрии и конфокальной микроскопии показано, что обработка клеток гепарином и сополимером 2,5-ДГБК-желатин приводила к снижению экспрессии Hsp90-alpha и Hsp90-beta на плазматической мембране клеток в 1,5-2 и 3,5-5 раз соответственно, что коррелировало с ингибированием миграции клеток.

Полученные данные позволяют предположить, что гепарин и синтезированный нами сополимер 2,5-ДГБК-желатин ингибируют миграцию клеток через снижение мембранной экспрессии Hsp90-alpha и Hsp90-beta. Это указывает на перспективность гепарина и сополимера 2,5-ДГБК-желатин в качестве противоопухолевых препаратов, тормозящих метастазирование опухолевых клеток.

АГРЕГАТИВНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЛАТЕКСОВ ПОЛИМЕТИЛМЕТАКРИЛАТА В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ РАСТВОРЕ

Терещенко М.С.¹, Широкова И.Ю.¹, Кучук В.И.¹, Беляев А.П.¹, Шевченко Н.Н.²

¹ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, ²ФГБУН Институт высокомолекулярных соединений РАН,
Санкт-Петербург, Россия

marishka.tereshenko@mail.ru

Первые исследования возможности использования латексов для иммунодиагностики были начаты еще в 1947 и продолжают по настоящее время, не теряя своей актуальности. Получение частиц с аминированной поверхностью позволило использовать их в качестве носителей биолигандов. Хемосорбция люминофора на поверхности частиц изменило подход к изучению прохождения реакции антиген-антитело: стало возможно не только визуальное наблюдение агглютинации, но и количественная оценка, присутствующего в организме антигена. Однако при проведении иммунологических тестов следует исключить негативно влияющую на результаты коагуляцию полимерных частиц при внесении в среду.

Целью данной работы являлось исследование агрегативной устойчивости положительно заряженных полимерных микросфер в физиологическом растворе.

В качестве первого объекта были выбраны монодисперсные полимерные сферические частицы, модифицированные люминофором, флуоресцеин 5(6)-изотиоцианат. Средний размер частиц после модификации составил 0.45 мкм по данным динамического рассеяния света. Частицы после сорбции белка на поверхности со средним размером 0.50 мкм были использованы в качестве второго объекта. Электрокинетический потенциал (ζ -потенциал) модифицированных частиц в водной среде составил -32 мВ, после сорбции белка значение ζ -потенциала возросло до -49 мВ.

Исследование агрегативной устойчивости проводили методом поточной ультрамикроскопии. Метод основан на наблюдении рассеянного частицами света в темном

поле при боковом освещении, непосредственный подсчет частиц позволяет исключить многие источники погрешностей. Для создания дисперсионной среды использовали стерильный изотонический водный раствор хлорида натрия (0.9% NaCl), наблюдение проводили в течение 5 часов.

В ходе работы было установлено, что отрицательно заряженные модифицированные частицы до и после сорбции белка в отсутствие электролита устойчивы в течение 5 часов наблюдения. При внесении дисперсии в физиологический раствор частицы, не содержащие белок, коагулируют, степень агрегации достигает 1.9. В тоже время после сорбции белка частицы оставались устойчивыми в течение всего времени наблюдения. Указанные различия могут быть связаны с фактором электростатического отталкивания, значения которого связаны с электрокинетическим потенциалом.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ И ИХ КОМПОНЕНТЫ КАК ИНГИБИТОРЫ КВОРУМ СЕНСИНГА У БАКТЕРИЙ

Толмачева А.А., Дерябин Д.Г.

ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

annatolmacheva56@gmail.com

Система межклеточной плотно-зависимой коммуникации у бактерий, обозначаемая термином «кворум сенсинг» (англ. - quorum sensing; QS), в настоящее время рассматривается как перспективная мишень для создания антибактериальных средств нового принципа действия. В качестве потенциальных ингибиторов QS значительный интерес привлекают к себе продукты растительного происхождения.

Целью настоящего исследования явился поиск лекарственных растений, способных выступать в качестве ингибиторов системы «кворум сенсинга», а также идентификация присутствующих в их составе соединений с подобной активностью.

При проведении работ в данном направлении показана типичность анти-QS активности у 11 из 20 лекарственных растений, в показаниях к использованию которых значится лечение и профилактика инфекционных состояний различной природы и локализации. Констатирована независимость зарегистрированной анти-QS активности от прямого антибактериального эффекта растительных экстрактов. Выявлено соответствие между анти-QS активностью и филогенетическим положением лекарственных растений, отраженным в системе APG III (2009). Методами обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии осуществлена идентификация биологически активных соединений экстракта коры дуба, проявляющего наиболее выраженную и стабильную анти-QS активность. На основе сопоставления идентифицированных компонентов с известными ингибиторами QS растительного происхождения сформировано положение о ведущей роли фенольных соединений в обеспечении данного варианта биологической активности. Выдвинуто предположение о том, что анти-QS эффект лекарственных растений определяется присутствием в их составе «коктейлей» из малых молекул с соответствующей биологической активностью. На основе результатов количественного фитохимического анализа смоделирована смесь из химических аналогов молекул коры дуба, полностью воспроизводящая анти-QS активность исходного растительного экстракта.

Полученные результаты явились основой для создания фитотерапевтической композиции из аддитивно воздействующих на систему QS лекарственных растений, а также молекулярной композиции, воспроизводящей природные механизмы ингибирования системы «кворум сенсинга» у бактерий.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Государственного задания Минобрнауки России (Проект №148).

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ
НИТРОБЕНЗОКСАДИАЗОЛОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ОКСИДА
АЗОТА (II): В ОПЫТАХ НА LUX-БИОСЕНСОРАХ *E. COLI***

**Чистяков В.А., Семенюк Ю.П., Морозов П.Г., Празднова Е.В., Чмыхало В.К.,
Харченко Е.Ю., Клецкий М.Е., Бородкин Г.С., Лисовин А.В., Буров О.Н.,
Курбатов С.В.**

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

jenua.xarchenko@yandex.ru

NO является мультимодальным регулятором множества физиологических процессов (релаксация сосудов, ингибирование агрегации тромбоцитов, работа иммунной и нервной системы), а также патологических состояний (инфекционные, воспалительные, опухолевые заболевания) в организме. На сегодняшний день выделяются два основных терапевтических подхода к изменению уровня NO *in vivo*: стимулирование/ ингибирование NO-синтазы (NOS) и использование экзогенных источников NO, выделяющих оксид азота в организме самопроизвольно или ферментативно. Одним из наиболее перспективных подходов к комплексной первичной оценке перспективности новых потенциальных доноров оксида азота для дальнейших исследований является применение биосенсоров, объединяющих живые организмы и электронные модули. Методами нуклеофильного ароматического замещения и циклоприсоединения синтезированы дигетарилы, включающие суперэлектрофильный динитробензоксадиазольный фрагмент и π -избыточные азотистые гетероциклы. С помощью генно-инженерных Lux-биосенсоров (штамм) *E. Coli* MG 1655 pSoxS-lux количественно определена их способность вызывать SOX-индукцию, что может быть результатом генерации NO *in vivo*. Исследуемые вещества показали отсутствие неспецифической токсичности, статистически значимую индукцию SOX-оперона. Интерес для поиска фармакологической активности представляют α - и β -пирролил производные 4-(1-benzyl-1H-pyrrol-2-yl)-5,7-dinitro-2,1,3-benzoxadiazole и 4-(1-benzyl-1H-pyrrol-3-yl)-5,7-dinitro-2,1,3-benzoxadiazole, а наиболее перспективным является производное N-метилпиррола 7-(1-methyl-1H-pyrrol-3-yl)-4,6-dinitro-2,1,3-benzoxadiazole 1-oxide, имеющий слабый генотоксический эффект и ДНК-протекторный эффект, возможно связанный с антиоксидантным действием NO. Использование генно-инженерных Lux-биосенсоров на основе *E. coli* является эффективным инструментом скрининга *in vivo* больших массивов потенциальных NO-доноров, а также методом определения их токсичности и ДНК-протекторной активности. Предварительные исследования на штамме *E. Coli* MG 1655 показали отсутствие антимикробной активности.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 14-13-00103.

СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА»

INTEGRATION OF MITOCHONDRIAL DNA FRAGMENTS INTO THE NUCLEAR GENOME: A NEW RADIATION-INDUCED MUTATION

Abdullaev S.A.

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Russian Federation

saabdullaev@gmail.com

The transfer of mitochondrial DNA (mtDNA) into the nuclear genome is a dynamic process, resulting in the formation of nuclear mitochondrial (numt) pseudogenes or numt-insertions. Experimental determination of *de novo* numt-insertions is limited by the extensive homology of mtDNA in the nuclear DNA (nDNA) of eukaryotes. Since chicken nDNA contains only 13 numt-pseudogenes, we tried to follow experimentally the induction of numt-insertions *de novo* in the nDNA of chicken (*Gallus gallus*) embryos developed from eggs subjected to X-ray irradiation. nDNA of chicken embryo liver were twice purified from free mtDNA by gel-electrophoresis and monitored by PCR. PCR were run to determine the numt-insertions in the nDNA of surviving embryos, using 11 primer pairs flanking regions of mtDNA size of 300-400 bp. However, the PCR of control group nDNA, by using the given primers, revealed no homology with mtDNA. PCR of nDNA of embryos from irradiated eggs testified the origination of amplified mtDNA regions in two among eight embryos. Two and three loci of mtDNA were reproducibly identified in purified nDNA from two individual embryos. The sequencing of PCR amplicons synthesized from these nDNA matrices showed that they were identical to mtDNA. Thus the results indicate that ionizing radiation can induce integration of mtDNA fragments into the nuclear genome, perhaps in the process of repair of double strand breaks in nDNA via a non-homologous end-joining mechanism. However, it can be assumed that the insertion of large fragments of mtDNA in nuclear genome, as in this experiment, is a rare event. This work was supported in part by the Russian Foundation of Fundamental Research (grant number 080400163).

HYDROXYAPATITE NANOSTRUCTURES WITH SURFACE MODIFIED POLAR PROPERTIES

Bystrova A.V.^{1,2}, Dekhtyar Y.D.², Coutinho J.³, Bystrov V.S.²

¹Institute of Mathematical Problems of Biology RAS, Pushchino, Russia; ²Biomedical Eng. And Nanotechnology Institute, Riga Technical University, LV-1658, Riga, Latvia; ³Physics Department, University of Aveiro, 3810-193, Aveiro, Portugal

aniria2003@mail.ru

Hydroxyapatite (HAP) is one of the most used materials in the implantology of bones and teeth. The main application area is HAP coating on implants in order to modify their surface properties for the best osseo-integration of living cells. As it was known the interaction between HAP and living cells is improved, if the HAP surface is charged or polarized. The HAP surface charges are very influenced by the changes of the concentration of the OH-vacancies and H-interstitials. In this work the first principle calculations and modeling of HAP surface modified and having defects (OH-vacancies, H-interstitials) were performed. Local Density approximation of Density Functional Theory (LDA DFT) method was used for crystal structure optimization and calculations of the electron Density of States (DOS) were performed. The crystal unit cells modeling was evaluated in combination with different quantum and molecular mechanical methods from HyperChem 8.01. Molecular modeling was confirmed by experimental photo-electron emission measurements up to 6.5 eV and photo-luminescence data from synchrotron DESY up to 30 eV. Obtained new data and its analysis is presented in this work. Results show that HAP can coexist in both hexagonal and monoclinic phases. Of special interest is ordered monoclinic phase, which demonstrate piezoelectric properties. The influence of OH-vacancies change the forbidden band gap and create additional energy levels in the middle of the forbidden band, which is half-occupied by electrons. Similar behaviour show the H-interstitials, but with more sharp and close to the top of the valence band energy levels. As

results, these arisen additional energy levels inside the forbidden band serve as trapping levels for electrons and holes, and led to corresponding photoluminescence. These effects allow us to control the changes of surface charges, which is very important for biomedical applications, because the most effective adhesion of living cells (osteoblasts) can be reached on such modified and charged HAP surface. This study is partially supported by RFBR grant 15-01-04924 (Russia).

URINARY CELL-FREE DNA AS A NEW POTENTIAL BIOMARKER OF THE ORGANISM RESPONSE TO IONIZING RADIATION EXPOSURE

Minkabirova G.M.^{1,2}, Abdullaev S.A.¹

¹Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation; ²Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russian Federation

gulchachak.mink@gmail.com

Investigation of cell-free DNA (cf-DNA) in bodily fluids, as a potential biomarker for assessing the effect of ionizing radiation on the organism is of considerable interest. We investigated changes in the contents of cell-free mitochondrial DNA (cf-mtDNA) and cell-free nuclear DNA (cf-nDNA) in the urine of X-ray exposed rats. Assays of cf-mtDNA and cf-nDNA were performed by a real-time PCR in the urine of rats collected before and after their irradiation with doses of 3 and 5 Gy. We also determined the presence of mutations in urine cf-mtDNA, as recognized by Surveyor nuclease. A sharp increase in cf-mtDNA and cf-nDNA in urine of irradiated rats was demonstrated within 24 hrs after exposure, followed by a decrease to normal levels. In all cases, the contents of cf-mtDNA fragments copies (estimated by gene *tRNA*) is significantly more as compared with the cf-nDNA (by gene *GAPDH*) in urine of rats. A certain portion of mutant cf-mtDNA fragments was detected in the urine of exposed rats, whereas they were absent in the urine of the same animals before irradiation. These preliminary data also suggest that increased levels of urine cf-mtDNA and cf-nDNA may be a potential biomarker for noninvasive assessment of how the organism responds to ionizing radiation influence. This work has been supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant 12-04-31070).

УСЛОВИЯ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ВЛИЯЮТ НА АМИЛОИДОГЕННЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ АРХЕЙ

Антонец К.С.^{1,2}, Дроздова П.Б.¹, Нижников А.А.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,

²Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

kirantonez@gmail.com

Амилоидами называют фибриллярные белковые агрегаты, обладающие кросс-бета структурой. Эти агрегаты обладают аномальной устойчивостью к воздействию факторов внешней среды. В связи с этим возникает вопрос, есть ли связь между экстремальными условиями обитания некоторых прокариот и амилоидогенными свойствами их белков? Для ответа на него мы проанализировали протеомы 76 видов архей и 104 видов бактерий. В результате было установлено, что в протеомах ацидофильных, термофильных и гипертермофильных архей в сравнении с нейтрофильными контролями достоверно повышена доля белков, имеющих в своей последовательности амилоидогенные участки. При этом, у галофильных архей наблюдается снижение доли таких белков в протеоме, а в протеомах экстремофильных бактерий каких-либо закономерных отличий от нейтрофилов по этому параметру, в целом, не выявлено. Также мы проанализировали динамику накопления амилоидогенных трактов в белках различных функциональных классов. В результате было установлено, что доля амилоидогенных белков повышается сильнее всего в классах наибольшего размера, причем эта классы с наибольшими долями являются одними и теми же для всех исследованных групп экстремофильных архей. Выявлены функциональные классы,

белки которых чаще становятся амилоидогенными в проанализированных условиях среды. Показано, что у ацидофильных и гипертермофильных архей значительно повышается доля амилоидогенных белков в различных функциональных классах, однако сильнее всего этот эффект выражен у белков, опосредующих динамику и структуру хроматина. В целом, результаты данной работы впервые демонстрируют наличие взаимосвязи между содержанием амилоидогенных трактов в протеоме и занимаемыми экологическими нишами. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-04-31838 и гранта Президента РФ № МК-4854.2015.4

МЕЖДОМЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СТРУКТУРЕ ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

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

ФГБУН Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, Москва, Россия

vlad_balaev@mail.ru

Тимидинфосфоорилаза (ТФ) – фермент, катализирующий обратимый фосфорилиз тимидина и 2'-дезоксиридина в соответствующие основания и 2- α -D-дезоксирибозу-1'-фосфат. Помимо участия в синтезе нуклеозидов, фермент также обладает ангиогенезной активностью и обеспечивает пролиферацию нервных клеток. На настоящий момент такое функциональное разнообразие никак не объяснено. Методом рентгеноструктурного анализа с использованием источника синхротронного излучения решены, уточнены и депонированы в PDB банк координаты двух структур фермента из бактерии *Salmonella typhimurium* (StTP): нелигандированная StTP (ID PDB: 4XR5; 2.05 Å) впервые при среднем разрешении и StTP+сульфат-анион (ID PDB: 4X46; 2.19 Å), имитирующий фосфат в активном центре белка. Как и у ранее исследованных структур фермента из *Escherichia coli* и ТФ человека, четвертичная структура StTP представляет собой гомодимер. Каждая субъединица, состоит из малого α -домена (включает лишь спиральные фрагменты) и большого α/β -домена (включает как α -спирали, так и β -ленты). Первый из доменов включает аминокислотными остатками (а.о.) с 1 по 65 и с 163 по 192, а второй все остальные. Анион сульфата образует водородные связи с а.о. Lys84/A, Ser95/A, Thr123/A. В субъединице А через воду контактирует с His85/A и через воду с Asp92/A и Ser86/A. В субъединице В структуры 4X46 в сравнении с А субъединицей этой же структуры отсутствует молекула воды, связывающая анион с His85, что приводит к смещению этого а.о. в направлении сульфата и разрыву его связи с О атомом Ile187 α -домена. Это приводит к частичному смещению α -домена в направлении α/β -домена. В нелигандированной структуре связь His85-Ile187 также отсутствует. Важно отметить, что по данным кинетических исследований замена His85 на Phe или Lys приводит к почти полной потере активности. Знание о конформационных изменениях, обусловленных связыванием лиганда, имитирующего субстрат, важно для понимания принципов функциональной и физиологической роли ТФ.

Работа выполнена при базовом бюджетном финансировании ИК РАН и при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-00952 а).

ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО γ -ОБЛУЧЕНИЯ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ДОЗ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И СКОРОСТЬ РОСТА РЯСКИ МАЛОЙ

Берестина А.В., Рассказова М.М., Гнусина Д.А.

Обнинский институт атомной энергетики – филиал ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия

aberestina@mail.ru

В радиобиологии многие явления и механизмы целесообразно исследовать на относительно простых растительных объектах, образующих модельную экосистему. Объект данного исследования – представитель семейства Lemnaceae ряска малая (*Lemna minor* L.) – водное, свободноплавающее высшее покрытосеменное растение.

Растения отбирались из природного водоема и содержались в лаборатории 2 – 4 недели до проведения эксперимента. Использовалась монокультура *Lemna minor*, визуально свободная от загрязнения другими организмами. В стеклянные контейнеры, содержащие 50 мл питательной среды, переносили по 30 особей ряски малой. Растения содержались в лаборатории при температуре 24 ± 2 °С и освещении флуоресцентной лампой в течении 14 часов в сутки. Для культивирования использовалась модифицированная жидкая питательная среда Штейнберга следующего состава (мг/л): KNO_3 – 175; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ – 148; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 45; KH_2PO_4 – 45; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 50; H_3BO_3 – 0,12. Готовая питательная среда разбавлялась в отношении 1:3 дистиллированной водой. Растения пересаживали на свежую среду через каждые 7 суток.

Облучение проводилось на базе МРНЦ РАМН на установках «Исследователь» (Россия, 60Сo, 33 Гр/мин) и « γ -cell» (Канада, 60Сo, 15 сГр/мин) в дозах 0,01, 0,1, 1, 30, 150 и 300 Гр.

Оценка влияния γ -излучения на *Lemna minor* проводилась на основании учета морфологических повреждений фрондов, а также изменения скорости роста популяции. Производился подсчет общего количества фрондов, отмерших щитков, щитков с корнями, отмечалось изменение окраски листочков (на 2, 8, 14, 21 и 28 сутки после облучения).

Кутлахмедов Ю.А. в своих работах показал, что радиочувствительность практически линейно возрастает с ростом номера дочернего щитка (от 10 до 70 Гр). LD50 для меристемы *Spirodella polyrrhiza* L., семейство Lemnaceae, составляет около 30 Гр.

В данном исследовании не обнаружено достоверных различий на уровне тканевых повреждений с 1 по 14 сутки эксперимента. Также не выявлены достоверные различия доли повреждений в контроле и при облучении дозой 0,01 Гр в течении всего эксперимента. Эффект, вызываемый облучением в дозе 0,1 Гр, заметно не увеличивается даже при увеличении дозы в 300 раз. При достижении более высоких доз зафиксировано достоверное превышение контрольного уровня в пробах, облученных в дозе 150, 300 Гр ($p < 0,05$): доля повреждений увеличивается в 3,8 – 6,2 раза. Таким образом, проведенные исследования показали эффективность достаточно малой дозы (0,1 Гр), наличие дозозависимого эффекта в диапазоне 0,1 – 30 Гр.

ТЕОРЕТИЧЕСКИ РАССЧИТАННАЯ ПРОСТРАНСТВЕННАЯ МОДЕЛЬ МИНИ-ФЕРМЕНТА, МОДЕЛИРУЮЩЕГО КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР АЛЛЕНОКСИДСИНТАЗЫ LeAOS3 (CYP74C3) ТОМАТА

Бессолицына Е.К., Ермакова Е.А., Топоркова Я.Ю.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

bessolicina_elen@mail.ru

Цитохромы P450 – обширная группа белков из семейства цитохромов, осуществляющих реакции окисления молекулярным кислородом органических соединений и являющихся важнейшими элементами системы детоксикации ксенобиотиков. Практически все ферменты суперсемейства P450 являются монооксигеназами, и для них характерно использование двух субстратов: непосредственно окисляемого соединения и молекулярного кислорода. Уникальным свойством ферментов семейства CYP74 (алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ) дивинилэфирсинтазы (ДЭС), эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС)), участвующих в липоксигеназном каскаде растений, является отсутствие необходимости в молекулярном кислороде. Относительно механизмов катализа, определяющих специфичность действия ферментов этого семейства, единого мнения у исследователей не существует. К настоящему времени методом рентгеноструктурного анализа расшифрованы третичные структуры только двух алленоксидсинтаз. Получение рентгеноструктурных моделей данных ферментов крайне затруднено, в том числе и в связи со значимыми размерами и сложностью получения кристаллических форм. Решением данной проблемы стало создание методами генной инженерии мини-фермента, моделирующего каталитический центр большого белка, с последующим анализом его структуры в комплексе с субстратом методом ЯМР высокого разрешения. Мы получили мини-фермент (25 кДа) на основе аминокислотной последовательности алленоксидсинтазы LeAOS3 (CYP74C3) томата (56 кДа). Мини-фермент сохранил способность удерживать в своем составе гем, а также катализировать превращения

гидроперекисей жирных кислот – природных субстратов ферментов СУР74. Однако механизм реакции был изменен: аналогичные продукты образуются в реакциях, катализируемых мутантными формами ферментов СУР74. Методом докинга было показано, что субстрат может образовывать энергетически выгодные комплексы с мини-ферментом, с энергией взаимодействия от -3 до -12 ккал/моль. При этом субстрат локализуется как в области активного центра, так и вне его, а наиболее энергетически выгодные комплексы были обнаружены в активном центре фермента. Анализ различных вкладов в полную энергию взаимодействия показывает, что электростатическое взаимодействие белка с субстратом слабое, и наибольший вклад в энергию взаимодействия вносят энергия Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, водородных связей и энергия сольватации.

ПОИСК НОВЫХ АМОЕВОЗОА-СПЕЦИФИЧНЫХ ГЕНОВ С ЦЕЛЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ДНК-БАРКОДОВ

Бондаренко Н.И., Смирнов А.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

natalya.lannik@gmail.com

В последнее десятилетие стало очевидным, что возможности описания, классификации и систематизации амёб опираясь исключительно на понятие «морфологического вида» практически исчерпаны. Морфологические признаки, как светомикроскопические, так и ультраструктурные позволяют достаточно надежно очертить роды голых амёб, но во многих случаях не позволяют достоверно различать виды. Во многих родах амёб внутривидовая изменчивость значительно перекрывает межвидовую (Smirnov et al. 2007). Подобная ситуация делает невозможными серьезные популяционные, биогеографические и экологические исследования амёб и приводит к тому, что амёбы зачастую полностью выпадают из поля зрения.

Исследователи полагали, что с развитием молекулярной систематики удастся решить проблему надежной дифференцировки видов амёб. Однако недавние исследования нашей группы, равно как и работы других авторов показали, что для амёб характерен необычно высокий уровень полиморфизма гена 18s rRNA, который используется в качестве видового маркера в молекулярной систематике. Кроме того, выяснилось, что этот ген у амёб чрезвычайно трудно амплифицировать из экстрактов тотальной ДНК, а создать специфические праймеры для Амоевозоа возможным не представляется. Очевидно, что надо искать другие гены, которые могут служить надежными маркерами вида при исследовании биоразнообразия амёб. В связи с этим целью нашего исследования является поиск генов, которые являются групп-специфичными для Амоевозоа с целью их последующего применения в качестве ДНК-баркодов.

При помощи программ Velvet и Oases нами была произведена de novo сборка транскриптомов 11 видов амёб из данных международного проекта MMETSP (Marine Microbial Eukaryote Transcriptome Sequencing Project). Оценку качества сборок проводили в программе QUAST. В качестве дополнительного метода оценки полноты сборки использовали пайплайн SEGMA. В собранных транскриптомах обнаружено от 80 до 90% 250 ультраконсервативных генов, используемых SEGMA. Предсказание генов проводили при помощи программы Augustus. В качестве тренировочного набора аннотированных генов для формирования модели, подходящей для исследуемых нами организмов, мы использовали выходные данные SEGMA, геном *Dictiostelium discoideum* и программу Scipio. Далее мы планируем провести кластеризацию ортологов при помощи BLAST и OrthoMC для последующей функциональной аннотации и отбора ряда кластеров генов с целью дальнейшей оценки их применения в качестве ДНК-баркодов.

Smirnov, A.V., Nassonova, E.S., Chao, E. & Cavalier-Smith, T. Phylogeny, Evolution, and Taxonomy of Vannellid Amoeboae. Protist 158, 295-324, 2007.

ЭФФЕКТ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО ЗАМЕДЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ

Велегжанинов И.О.¹, Ермакова А.В.¹, Раскоша О.В.¹, Клоков Д.Ю.²

¹ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия;

²Canadian Nuclear Laboratories, Чолк Ривер, Онтарио, Канада

vellio@yandex.ru

Хорошо известно, что ионизирующее излучение в высоких дозах оказывает детерминируемое деструктивное действие на биологические системы. В тоже время, эффекты ионизирующего излучения в малых дозах не описываются путём экстраполяции с диапазона высоких доз и характеризуются проявлением таких специфических феноменов как гормезис, адаптивный ответ, и гиперрадиочувствительность по различным показателям и на различных уровнях организации. В частности, одним из первых был известен, и в значительной степени изучен, эффект стимуляции пролиферации клеток различных тканей млекопитающих в экспериментах *in vitro*. В наших предшествующих исследованиях впервые был описан эффект радиационно-индуцированного замедления клеточного старения при облучении нормальных фибробластов лёгких человека линий HFL1 и AG01522 в дозах 1,25 и 10 сГр. В представленной работе, с использованием аналогичной линии клеток ФЛЭЧ-104 мы изучили дозовую зависимость проявления данного эффекта с высоким разрешением. Полученные результаты являются дополнительным доказательством существования обнаруженного феномена. Кроме того, получено первое свидетельство того, что известное стресс-индуцированное клеточное старения, вызываемое облучением в высоких дозах также может сменяться, при длительном культивировании, периодом снижения доли стареющих клеток.

На основе данных по уровню экспрессии ключевых генов стресс-ответа, и генов-маркеров пролиферации, обсуждается возможная связь обнаруженных феноменов с радиационно-индуцируемой стимуляцией пролиферации.

Работа поддержана грантом РФФИ No 13-04-01750a.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ ПОЛЯРИЗАЦИИ В ТОНКИХ ПЛЕНКАХ НА НАНОУРОВНЕ

Геворкян В.Е.¹, Парамонова Е.В.², Быстров В.С.²

¹ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону;

²ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

v.geworkian@yandex.ru

В данной работе исследуется поляризация ПВДФ нанопленок Ленгмюра–Блоджетт. Сегнетоэлектрические тонкие плёнки Ленгмюра–Блоджетт, основанные на сополимерах поливинилиденфториде и поли(винилиденфторид- трифторэтилене), демонстрируют явление переключения поляризации на наноуровне с локальным переключением сегнетоэлектрической поляризации на атомно-молекулярном уровне. Области широкого применения ПВДФ и П(ВДФ-ТрФЭ) – в нанотехнологиях и микроэлектронике, устройствах хранения информации и новых энергонезависимых запоминающих устройствах.

Для корректного определения поляризации в этом случае необходимо иметь правильную и соответствующую молекулярную модель механизмов физических процессов, происходящих в поверхностных слоях образца. С этой целью в данной работе было выполнено детальное компьютерное моделирование из первых принципов и последовательное изучение молекулярных моделей структуры ПВДФ. Все версии моделей были разработаны и исследованы с использованием программного пакета NupurChem 8.0. Мы исследовали основные электрические и физические свойства ПВДФ. С помощью специальной опции в пакете NupurChem, позволяющей имитировать включение внешнего электрического поля в различных направлениях, нами изучалось влияние приложенного электрического поля на структуру моделей молекулярных цепей различной длины и в различных конформациях. При проведении моделирования и расчетов в данной работе были использованы различные вычислительные методы, включая квантово-химические расчеты, основанные на полуэмпирических методах, в приближениях как ограниченного, так и неограниченного

методов Хартри-Фока. Применялись также и методы молекулярной механики. Сравнение и анализ данных, полученных различными методами, позволяет повысить надежность результатов. Развитие полуэмпирических методов конкурирует с методами ТФП, но каждый подход имеет свои области применения. На первом этапе был рассмотрен минимальный структурный блок, содержащий основной молекулярный мотив ПВДФ-сополимера ...–CH₂-CF₂–... шесть раз. Основные параметры такой модели рассчитаны указанными выше методами: дипольный момент, объём и поляризация, энергия верхних занятых молекулярных орбиталей, энергия нижних незанятых молекулярных орбиталей и ширина запрещённой зоны. Полученные значения величин близки к рассчитанным другими авторами в разных ТФП-подходах.

ХАОТИЧЕСКОЕ ИЗМЕНЕНИЕ КАРДИОИНТЕРВАЛ ШКОЛЬНИКОВ ПРИ СМЕТЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОЯСОВ

Горбунов Д.В.¹, Эльман К.В.¹, Прасолова А.А.¹, Трусов М.В.²

¹БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», Сургут; ²Ляминская СОШ, Сургутский район, Россия

Gorbunov.dv@mail.ru

Многочисленные попытки анализа не демонстрировали существенных результатов в изучении heart rate (HR - кардиоинтервал). Сегодня можно четко сказать, что все эти методы не имеют диагностической ценности, их использование в медицине и биологии практически незначимо из-за неустойчивости получаемых результатов даже для одного человека (и тем более для групп испытуемых). Главная проблема в этой низкой эффективности традиционной науки заключена именно в хаотической особенности поведения кардиоинтервалов, которые очень похожи на постуральный тремор.

В данной работе представлены результаты обработки кардиоинтервалов 15 мальчиков, полученных с помощью метода вариационной пульсоксиметрии (время регистрации 5 минут). Тестирование выполнялось в 4-х разных временных промежутках: до отъезда детей в санаторий, по приезду на отдых, в конце отдыха и непосредственно по возвращению. Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи следующих программных пакетов – «ExcelMSOffice-2003» и «Statistica 6.1».

Если для 15 отрезков кардиоинтервалов от разных испытуемых при 15 измерениях рассчитать матрицу попарного сравнения получаемых функций распределения $f(x)$, то для такого набора $f_i(x)$ и их парного сравнения по критерию Вилкоксона мы из 105 разных пар в лучшем случае получаем 5-7 пар, которые продемонстрируют возможность отнесения этих двух выборок (и их $f(x)$) к одной генеральной совокупности. Система регуляции кардиоритма будет демонстрировать генерацию разных выборок, состояние регуляторных механизмов будет непрерывно изменяться. Такая динамика $f(x)$ вполне соответствует хаосу АЧХ, $A(t)$, свойству перемешивания. Это особый непрерывный хаос. Существенно, что набор разных $f_i(x)$ мы будем получать при парном сравнении кардиоинтервалов от одного человека (15 наборов серий кардиоинтервалов от одного испытуемого) и при парном сравнении разных кардиоинтервалов (от разных испытуемых). Оказывается, что при изменении внешних условий среды или физиологического состояния организма число пар совпадений вполне закономерно будет изменяться. Например, матрицы попарного сравнения 15-ти кардиоинтервалограмм испытуемых до и после отдыха число совпадений $k=28$. Все это говорит об общих механизмах самоорганизации (и настройки) в работе кардио-респираторной системы. Эта общность заключена в переходе от хаоса к порядку (и стохастике) и наоборот. Перестройка в механизмах регуляции HR является не детерминистской и не стохастической, она носит хаотический порядок.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ АЛЬБУМИНА И ФИБРИНОГЕНА

Горобец М.Г., Сультимова Н.Б., Бычкова А.В.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

mary-gorobec@yandex.ru

Сывороточный альбумин и фибриноген - важнейшие в функциональном отношении белки плазмы крови. В то же время, являясь превалирующими по массе белками плазмы крови, они способны активно вовлекаться в процессы окислительной модификации под действием активных форм кислорода (АФК).

Целью данной работы являлось изучение окислительных свойств бычьего сывороточного альбумина (БСА) и фибриногена в модельных системах индуцированного окисления.

Для генерации гидроксильных радикалов использовались озон и система Фентона (смесь перекиси водорода и соли железа (II)). Генерация гидроксильных радикалов в обеих системах тестировалась с помощью селективных ловушек - терефталевой кислоты (ТФК) и терефталевой соли (ТФС), образующих при взаимодействии с гидроксильными радикалами флуоресцирующие продукты - гидрокситерефталаты. Окисленные и неокисленные образцы (ТФК, ТФС, БСА, фибриноген, системы белок + ТФС / ТФК) исследовались с применением методов спектрофлуориметрии, спектрофотометрии, динамического светорассеяния при различной продолжительности инкубации с источниками генерации АФК.

В работе было показано, что при озонировании ТФК и ТФС в жидкой фазе наблюдается образование гидрокситерефталатов, доказывающее генерацию гидроксильных радикалов. При взаимодействии белков с озоном и системой Фентона происходит тушение флуоресценции белков, свидетельствующее об окислении ароматических аминокислот, входящих в состав БСА и фибриногена. В случае действия озона на исследуемые белки можно предполагать, что их окислительные модификации являются результатом молекулярного и свободнорадикального окислений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 14-04-31897 мол_а).

АСИНХРОННАЯ СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА И ВЕЗИКУЛЯРНЫЕ ПУЛЫ

Григорьев П.Н., Зефирова А.Л.

ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

grigpavel@list.ru

В механизмах вызванной секреции выделяют два компонента – синхронный и асинхронный. Если синхронная секреция медиатора поддерживается везикулами рециклирующего и резервного пулов, то источник везикул для асинхронной секреции медиатора остается неизвестным. В экспериментах на двигательных нервных окончаниях кожно-грудинной мышцы лягушки с использованием электрофизиологического подхода (внутриклеточное и внеклеточное микроэлектродное отведение постсинаптических сигналов) и флуоресцентной конфокальной микроскопии исследовались процессы экзоцитоза синаптических везикул рециклирующего и резервного пула в условиях стимуляции различных вариантов вызванной секреции медиатора. В некоторых экспериментах был использован раствор, в котором ионы Ca^{2+} были эквимоллярно заменены на ионы Ba^{2+} (Ba-раствор). Обнаружено, что при высокочастотном раздражении (20 имп/с) двигательного нерва в стандартном растворе регистрировалась практически только синхронная секреция медиатора, в Ba-растворе – асинхронная секреция. Избирательное окрашивание синаптических везикул рециклирующего или резервного пулов производилось в стандартном растворе с использованием флуоресцентного красителя FM 1-43 (6 мкМ). Последующее высокочастотное раздражение предварительно окрашенных препаратов в Ba-растворе приводило к падению интенсивности свечения нервных окончаний и исчезновению флуоресцирующих пятен. Полученные данные позволяют предполагать вовлечение в асинхронную секрецию медиатора синаптических везикул как рециклирующего, так и резервного пулов.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-01232-а.

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОДНОРОДНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЛИНИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ

Губина Н.Е.¹, Пятков М.И.²

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,

²ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

nina.e.gubina@gmail.com

Одним из важнейших критериев чистоты экспериментов, связанных с использованием генетически измененных организмов, является генетическая однородность экспериментальных и контрольных линий. Общепринятый метод выравнивания генотипов сводится к скрещиванию самцов, несущих мутацию, с самками определенной популяции дикого типа, в течение 6-13 поколений. В настоящей работе представлена оценка эффективности подобного выравнивания путем сравнения распределения однонуклеотидных полиморфизмов (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) в трех генетически модифицированных линиях *Drosophila melanogaster* (CxI>2;NDI1>dG - RNAi + ген дрожжей NDI1 + драйвер; NDI1>dG - ген дрожжей NDI1 + драйвер; CxI>2;NDI1>3 - RNAi + ген дрожжей NDI1, нерабочие), выровненных по геному линии дикого типа Dahomey. В качестве контроля, демонстрирующего генетическое различие популяций, использовались линии дикого типа Dahomey и Oregon R.

Поиск SNP осуществлялся на основе данных РНК-секвенирования в кодирующих участках генома со следующими параметрами: минимальное покрытие – 20 прочтений, количество замен нуклеотида – 90% (чтобы исключить из анализа гетерозиготные полиморфизмы). Каждая линия была представлена четырьмя биологическими образцами, по 60 мушек на образец. SNP, обнаруженные в каждом из четырех повторов, были объединены в единый список и рассматривались как репрезентативный набор полиморфизмов для каждой линии. При сравнении трех экспериментальных линий оказалось, что они имеют общими 86% (CxI>2;NDI1>dG), 85% (NDI1>dG) и 90% SNP (CxI>2;NDI1>3). При сравнении линий Oregon R и Dahomey оказалось, что для них общими являются 64% (Oregon R) и 59% (Dahomey) SNP. Эти данные подтверждены анализом варибельности транскриптомов с помощью метода главных компонент.

Таким образом, полученные данные позволяют считать экспериментальные линии генетически однородными, по сравнению с варибельностью полиморфизмов между двумя неродственными популяциями. Остаточная варибельность между экспериментальными линиями может объясняться двумя причинами. Во-первых, при использовании РНК-секвенирования невозможно достичь равномерного покрытия, в связи с чем некоторые SNP могут оказаться за пределами выбранного порога по покрытию. Во-вторых, не исключается вклад соматических мутаций и аллельного разнообразия, которое всегда присутствует в популяции и неизбежно накладывает отпечаток при использовании более чем одной особи в биологическом образце.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-07-31306.

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ФЛАВИН-ЗАВИСИМЫХ ОКСИДОРЕДУКТАЗ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ И *E. COLI* - ВОЗМОЖНОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ КОМПЛЕКСА С ЛЮЦИФЕРАЗОЙ

Деева А.А.¹, Темлякова Е.А.², Немцева Е.В.¹, Кратасюк В.А.¹

¹ФГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, Красноярск;

²ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

adeeva@sfu-kras.ru

Флаavin-зависимые биферментные системы играют важную роль в функционировании микроорганизмов. Однако, механизмы сопряженной работы ферментов в таких системах окончательно не установлены. Поэтому исследование флавин-зависимой биферментной системы, состоящей из NAD(P)H:FMN-оксидоредуктазы и люциферазы люминесцентных бактерий, имеет важное значение для понимания фундаментальных механизмов работы

метаболических цепей микроорганизмов, а также для усовершенствования аналитических методов, основанных на бактериальной биолюминесценции *in vitro*. Существует две противоположные гипотезы о механизме совместной работы этих ферментов с восстановленным флавином (FMNH₂): (i) независимая работа и перенос FMNH₂ за счет свободной диффузии и (ii) образование белкового комплекса с прямой передачей FMNH₂. На данный момент строгого экспериментального доказательства, поддерживающего одну из гипотез, получено не было. Целью данной работы являлось установление связи между разными типами оксидоредуктаз различных биолюминесцентных бактерий и определение их роли в биолюминесцентной реакции. Были изучены структуры люцифераз и оксидоредуктаз нескольких видов светящихся бактерий из семейств *Vibrionaceae*, *Shewanellaceae* и *Enterobacteriaceae*. Для каждого фермента были выявлены и проанализированы консервативные участки первичной, вторичной, третичной и четвертичной структур. Помимо этого, были предсказаны положения сайтов связывания FMN, NAD и другие структурные мотивы, а также смоделированы пространственные структуры белков. Для анализа возможности формирования комплекса между ферментами было рассчитано поверхностное распределение электростатического потенциала на смоделированных структурах. Опираясь на имеющиеся литературные данные, рассматривали три класса оксидоредуктаз, предположительно способных формировать комплекс с люциферазой: (i) оксидоредуктазы luxG, (ii) оксидоредуктазы, подобные *fre* *E.coli*, (iii) специфические оксидоредуктазы, такие, как *frg*, *frg*, *frd* из *Vibrio harveyi* и *FRaseI* из *Aliivibrio fischeri*. В некоторых работах ставится под сомнение существование белкового комплекса ввиду существования большого многообразия оксидоредуктаз. Однако в данной работе было показано, что многообразие оксидоредуктаз сопряжено с наличием общих структурных мотивов, характерных для оксидоредуктаз разных типов. Более того, было установлено, что физические свойства оксидоредуктаз, а именно распределение электростатического потенциала на поверхности белков, обладают характерными паттернами, что не исключает возможности формирования транзientных комплексов люциферазы с разными оксидоредуктазами.

ПАЛЬМИТИНОВАЯ КИСЛОТА И ПРОДУКТЫ ЕЁ ω -ОКИСЛЕНИЯ КАК ИНДУКТОРЫ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПЕРМЕАБИЛИЗАЦИИ МИТОХОНДРИЙ И ЛИПОСОМ

Дубинин М.В.¹, Хорошавина Е.И.¹, Ведерников А.А.¹, Белослудцев К.Н.², Самарцев В.Н.¹

¹ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола; ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Россия

Dubinin1989@gmail.com

Известно, что насыщенные монокарбоновые жирные кислоты, например, пальмитиновая, способны индуцировать Ca^{2+} -зависимую циклоспорин А (ЦсА)-нечувствительную неспецифическую проницаемость мембраны митохондрий, в основе которой лежит механизм хемотропного фазового перехода в липидном бислое. Ранее нами было показано, что α, ω -диоловые кислоты (среди них наиболее эффективно α, ω -гексадекандиоловая кислота (ГДК)) в митохондриях печени также способны индуцировать Ca^{2+} -зависимую неспецифическую проницаемость внутренней мембраны, в том числе, и по нечувствительному к ЦсА механизму. Результаты экспериментов, проведенных на липосомах, позволили предположить, что ГДК/ Ca^{2+} -зависимая проницаемость митохондрий реализуется за счет механизма слияния внутренней и внешней мембран органелл.

В настоящей работе нами проведены сравнительные исследования действия пальмитиновой кислоты и продуктов ее внутриклеточного ω -окисления, а именно, ω -гидрокспальмитиновой (ГПК) и ГДК на Ca^{2+} -зависимую проницаемость митохондрий печени и лецитиновых липосом. Показано, что в присутствии Ca^{2+} все указанные кислоты способны индуцировать проницаемость как внутренней мембраны митохондрий, так и липосом. Индукция проницаемости сопровождается набуханием митохондрий, падением мембранного потенциала, а также выходом Ca^{2+} из матрикса. Проницаемость митохондрий, индуцированная этими жирными кислотами, наблюдается и при замене Ca^{2+} на Sr^{2+} . Необходимо отметить, что

ЦсА не ингибирует индукцию проницаемости в митохондриях печени. Установлено, что в наших условиях наибольшей эффективностью среди примененных жирных кислот как индукторов Ca^{2+} -зависимой проницаемости митохондрий печени обладают ГПК и ГДК. С другой стороны, при индукции проницаемости лецитиновым липосом, загруженных флуоресцентным зондом сульфородамино Б, наблюдается противоположная картина, эффективность жирных кислот как индукторов Ca^{2+} -зависимой пермеабиллизации снижается в ряду Пальмитиновая кислота > ГДК > ГПК.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках проекта № 1365), гранта РФФИ (№ 14-04-00688-а) и гранта МарГУ (№2014-0106).

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДОКСОРУБИЦИНА В КОМПЛЕКСЕ С ДНК КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА В РАСТВОРАХ С РАЗЛИЧНОЙ ИОННОЙ СИЛОЙ

Духанина Е.В., Лысенко Ю.А., Артюхов В.Г.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

renata_elen@rambler.ru

Доксорубин (ДР) – широко используемый в терапии опухолей различной этиологии антибиотик антрациклинового ряда. Основной его мишенью в клетке является молекула ДНК, с которой он нековалентно связывается в основном путем интеркаляции между парами азотистых оснований. По данному вопросу накоплен обширный практический материал, однако основная масса исследований подобного рода были выполнены с использованием коммерческих препаратов, полученных из клеток неопухолевого происхождения. В связи с этим представлялось актуальным проведение экспериментов по выяснению механизма связывания ДР с ДНК клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) в различных условиях, позволяющих модулировать процесс комплексообразования. В частности, известно, что на степень и характер связывания веществ может оказывать влияние варьирование ионной силы раствора.

В экспериментах использовали растворы высокомолекулярной ДНК в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л п. н., выделенной нами из клеток АКЭ. В качестве растворителя использовали бидистиллированную воду, трис-ЭДТА-буфер (0,01 моль/л; pH 7,4) с добавлением NaCl (0,01 и 0,10 моль/л). О наличии взаимодействия между анализируемыми веществами судили по изменению спектральных характеристик ДР в длинноволновой полосе его поглощения (478 нм), где абсорбция ДНК отсутствует. Известно, что связывание ДР с ДНК сопровождается гипохромным эффектом: снижением оптической плотности в полосе поглощения антибиотика. Нами выявлено, что добавление ДНК к раствору ДР ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л; соотношение концентраций пар нуклеотидов ДНК и молекул лиганда – 1:1) индуцирует максимальный гипохромный эффект в случае использования водного раствора ДР (41,2 %) и минимальный – в присутствии 0,01 моль/л NaCl (25,4 %). При этом наблюдался также батохромный сдвиг максимума поглощения ДР на 14 нм. Для смеси ДНК–ДР в растворе NaCl (0,10 моль/л) зарегистрировано понижение интенсивности полосы поглощения на 30,0 %; также выявлено, что после нагревания (95 °С) и охлаждения комплекса ДР–ДНК обнаруживалось усиление гипохромного эффекта в максимуме абсорбции ДР на 4,7 % и батохромный сдвиг на 12 нм относительно контрольной величины (ДР в свободной форме). Таким образом, нами показано, что повышение ионной силы раствора вызывает неоднаправленные изменения оптических характеристик смеси ДР–ДНК, что может свидетельствовать об изменении характера связывания этих веществ при соотношении концентраций ДНК–лиганд 1:1.

МЕХАНИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДИГИДРОУРИДИНСИНТАЗ С ТРАНСПОРТНЫМИ РНК

Затылкин Ф.А., Касацкий П.С., Коневега А.Л.

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ
«Курчатовский институт», ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

zatfedya@gmail.com

Характерной особенностью молекул тРНК является наличие большого количества модифицированных нуклеотидов. Все модификации нуклеотидов тРНК являются посттранскрипционными, возникающими в процессе созревания первичного транскрипта тРНК. Один из наиболее распространенных модифицированных нуклеозидов – дигидроуридин, образуется восстановлением двойной связи C5-C6 в молекуле уридина. Дигидроуридин расположен в определенных положениях D-петли тРНК и играет существенную роль в регуляции конформационной жесткости молекулы тРНК. Формирование дигидроуридина в тРНК катализируется классом ферментов, известных как дигидроуридинсинтазы. В *E. coli* обнаружены три фермента класса дигидроуридинсинтаз (DusA, DusB и DusC), в дрожжах обнаружено четыре фермента класса дигидроуридинсинтаз и один – в *Thermus Thermophilus*.

Повышенный уровень дигидроуридинирования тРНК в эукариотических клетках ассоциирован с развитием некоторых видов рака, в том числе немелкоклеточного рака легких. Было показано, что высокий уровень модификации уридина связан с усиленной экспрессией гена *hDus2*, гомологичного бактериальным дигидроуридинсинтазам. Супрессия с помощью siRNA снижает количество белка hDUS2, уменьшает содержание дигидроуридина в тРНК и подавляет рост злокачественных клеток. Для разработки потенциальных противоопухолевых препаратов, действующих на модифицирующие ферменты, необходимо детальное изучение молекулярного механизма действия дигидроуридинсинтаз.

Изучение молекулярного механизма функционирования дигидроуридинсинтаз проводится с использованием как структурных методов (рентгеновская кристаллография), так и функциональных исследований, включая биохимические и биофизические методы. В ходе работ используются транскрипты тРНК с заменами UàC в положениях 16, 17, 20). Взаимодействие тРНК с дигидроуридинсинтазами было изучено с помощью аналитической гель-фильтрации и электрофореза. Показано, что уридин в положении 16 является не только субстратом, но и элементом, определяющим специфичность взаимодействия DusC из *E. coli* с субстратами тРНК.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЯХ ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

**Канева А.В., Белых Е.С., Майстренко Т.А., Шадрин Д.М., Пылина Я.И.,
Велегжанинов И.О.**

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

canewa.anuta@yandex.ru

Существует недостаток данных об эффектах и механизмах адаптации у растений и животных из природных популяций, обитающих под воздействием хронических антропогенных стрессовых воздействий. Очевидно, однако, что выживание популяции в таких условиях связано с изменениями, проявляющимися на всех уровнях организации живой материи, от молекулярного до популяционного.

Цель настоящих исследований заключалась в одновременном анализе стабильности генома, индивидуальной стрессоустойчивости и популяционных изменений у дождевых червей *Aporrectodea caliginosa*, обитающих в почвах антропогенно загрязнённых участков

В результате проведённых исследований показано, что уровни повреждения ДНК, определенные с помощью щелочного и нейтрального вариантов метода ДНК-комет, у дождевых червей с загрязненного участка не отличались от спонтанного уровня повреждений,

обнаруженных у животных из контрольной популяции. Данный факт может свидетельствовать об адаптивных изменениях у особей с загрязненной территории. Скорость репарации повреждений ДНК, индуцированных дополнительным острым облучением (4 Гр) у *A. caliginosa* с загрязненного участка, достоверно выше, чем у дождевых червей с контрольного участка. В то же время устойчивость дождевых червей с загрязненного участка к дополнительному воздействию кадмия в высоких концентрациях была ниже, чем у особей из контрольной популяции.

ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ СЕКВЕНИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Катаев Я.И., Киряков В.С.

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России

Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

vallenchtain@gmail.com

Развитие современных высокотехнологичных молекулярно-генетических методов исследования открывает новые возможности для медицины. К числу таких методов относится секвенирование нуклеиновых кислот.

Метод секвенирования может быть успешно использован в медицинских учреждениях для идентификации возбудителей и мониторинга внутрибольничных инфекций. Он позволяет наблюдать за миграцией возбудителей и определять их «генетическую родину», отслеживать мутационные изменения возбудителей инфекционных заболеваний, а также выявлять ранее неизвестные патогены. Особую роль метод может сыграть в определении резистентности микроорганизмов к лекарственным препаратам посредством анализа их генома и обнаружения генов, ответственных за нее.

Одним из самых точных и быстрых методов секвенирования является «Sequence by synthesis», который использует нуклеотиды с флуоресцентной меткой. Применение данного метода позволяет с высокой точностью определять первоначальную структуру нуклеиновой кислоты.

Важным этапом исследования, требующим значительных затрат времени и материальных ресурсов, является накопление банка первичных нуклеотидных последовательностей для формирования региональных баз данных. Последующая работа с базами данных подразумевает использование методов биоинформатики. Это предполагает адаптацию существующего и создание нового программного обеспечения, позволяющего автоматизировать работу с базами данных. Формирование региональных баз данных и разработка программного обеспечения создаст необходимые условия для внедрения метода секвенирования в медицинскую практику для решения широкого круга задач.

ХАРАКТЕРИСТИКА И ГЕНОМНАЯ АННОТАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ SSR ЛОКУСОВ У ТОНКОВОЛОКНИСТОГО ХЛОПЧАТНИКА (*G.BARBADENSE* L.)

**Клюева М.В.¹, Закирова Д.В.¹, Туракулов Н.З.¹, Абдуллаев А.А.²,
Салахутдинов И.Б.¹, Абдукаримов А.А.²**

¹Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Министерства сельского и водного хозяйства, ассоциации «Узпахтасаноат»; ²Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз, Узбекистан

mary.klyueva@outlook.com

В настоящее время создано множество генетических карт культивируемых сортов хлопчатника (*G.barbadense*) и определены QTL сцепленных с хозяйственно-ценными признаками, как, например, качество и выход волокна, устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам и т.д. Данные генетические карты преимущественно построены с использованием микросателлитных маркеров. Однако, эти маркеры являются анонимными, так как они не дают информацию о том какой ген(ы) они маркировали. Целью исследования является определение генов в маркированных участках генома, ответственных за проявление

того или иного признака и повышения информативности генетических карт. На сегодняшний момент для поиска потенциальных генов в маркированных участках нами была использована последовательность полного генома *G. raimondii*, опубликованного в 2012 году и маркеры, ассоциированные с хозяйственно-ценными признаками, идентифицированными нами ранее.

Был проведен ПЦР-анализ ДНК *G. raimondii* с 25 парами SSR-праймеров, локусы которых показали значительную корреляцию с полезными признаками у родственного вида *G. barbadense*. 20 пар праймеров амплифицировали локусы и были использованы для дальнейшего исследования. Последовательности этих праймерных пар использовали для проведения *in silico* PCR с помощью соответствующего инструмента в программе UGENE 1.15.1. Отбирались последовательности, содержащие «виртуальные» ампликоны, длина которых была схожа с полученными при экспериментальной ПЦР и включающие в себя микросателлитные последовательности. Для поиска кандидатных генов были взяты регионы, включающие 20 т.п.н., расположенные выше и ниже SSR маркерного локуса, для последующего BLAST анализа.

По результатам, маркеры, ассоциированные с длиной волокна – BNL3479_237 и BNL3902_171, маркировали регион, который содержит гены, кодирующие белки фукозилтрансферазу и галактозилтрансферазу, участвующих в мобилизации ксиллоглюкана – одного из компонентов клеточной стенки у растений. В регионе маркированного по BNL3937_230, ассоциированного с равномерностью волокна, локализуется ген арабиногалактана – белка, связанного с развитием волокна и его удлинением.

Таким образом, с помощью *in silico* PCR и BLAST анализа были определены предполагаемые гены, ответственные за длину и равномерность волокна у *G. barbadense*, и прежде анонимные маркеры BNL3479, BNL3902 и BNL3902 потенциально могут быть отнесены к функциональным, так как маркированные ими регионы содержат гены фукозилтрансферазы, галактозилтрансферазы и арабиногалактана.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ИНФРОКРАСНОГО ДИАПАЗОНА НА ПОЛ В ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС

Коваленко А.А.¹, Овсянникова Т.Н.¹, Гурин О.В.¹, Гладких А.И.²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, ²Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины, Харьков, Украина

aerlina@mail.ru

При сахарном диабете, в разных тканях организма происходит активация ПОЛ, приводящая к структурной перестройке мембран и изменению их клеточного метаболизма и архитектоники. Целью нашей работы было изучение действия низкоинтенсивного лазерного излучения инфракрасного диапазона на мембрану эритроцитов, как при нормальной жизнедеятельности клеток, так и в условиях модельного дексаметазонового сахарного диабета 2 типа (СД2) на фоне его коррекции новым сахароснижающим препаратом Ser 00211.

Уровень перекисного окисления липидов определяли по концентрации первичных продуктов ПОЛ - конъюгатов жирных кислот (диеновых - ДК, оксодиеновых - ОДК, триеновых - ТК и тетраеновых - ТЕТ) - в эритроmasсе, полученной после декапитации контрольных крыс и животных с экспериментальным СД 2. Производили сравнение уровня первичных продуктов ПОЛ до и после воздействия на суспензию эритроцитов низкоинтенсивным лазерным излучением (НИЛИ) инфракрасного диапазона ($\lambda=9,5$ мкм, $P=0,441$ Вт/см²). Концентрацию конъюгатов выражали в нмоль на 1 мл эритроmasсы (кроме ТЕТ, для которых не определен коэффициент молярной экстинкции, их значения приводили в Ед. опт. плотности на 1мл эритроmasсы).

Полученные нами данные подтвердили тот факт, что при СД 2 происходит активация процессов ПОЛ: накопление в эритроцитах первичных продуктов возрастает в 1,5 раза по сравнению с контролем ($p<0,05$). После облучения контрольных образцов НИЛИ в течении 10 минут концентрация всех первичных продуктов ПОЛ в данной группе увеличилась приблизительно в 1,3 раза, но в группе с СД 2 они остались без изменений.

Преведенные цифры показывают, что воздействия НИЛИ инфракрасного диапазона на красные клетки контрольных крыс приводит к проявлению прооксидантного эффекта, тогда

как при СД 2 никакого эффекта не выявлено. Это может свидетельствовать как о переходе первичных продуктов ПОЛ во вторичные (которые нами, к сожалению, не исследовались), так и об истощении пула субстратов для ПОЛ в мембранах эритроцитов при СД 2. Возможна также реализация антиоксидантных механизмов в организме животных в условиях фармакологической коррекции СД 2 (которая несколько снижает гипергликемию при СД 2, но не до уровня контроля). Однако эти предположения требуют дополнительных исследований. Таким образом, воздействия НИЛИ инфракрасного диапазона может служить дополнительным аналитическим приемом, позволяющим оценить состояние молекулярных механизмов развития патологии, связанной с изменением мембранного аппарата красных клеток крови.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТОЧНОСТИ ОЦЕНОК НУКЛЕОТИДНОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА

Коваленкова М.В.

ФГБОУ ВО Иркутский национальный исследовательский технический университет,
Иркутск, Россия

kovalenskova@mail.ru

Нуклеотидное разнообразие, или среднее число нуклеотидных замен на позицию между двумя случайно выбранными последовательностями, является основным показателем полиморфизма в популяции. Можно предполагать, что объем выборки, необходимый для получения достоверных значений нуклеотидного разнообразия в популяции будет зависеть от уровня изменчивости популяции. Для проверки этого предположения были взяты две популяционные выборки организмов с различными уровнями полиморфизма: митохондрии человека и полные геномы вируса иммунодефицита человека-1, принадлежащих субтипу С из ЮАР. Объем выборок составляет по приблизительным оценкам 1/200 и 1/250 от общего объема популяций. Нуклеотидное разнообразие этих выборок отличается более, чем в 30 раз. Цель данной работы – сравнение результатов измерений нуклеотидного разнообразия двух популяций с разным размахом изменчивости в зависимости от размера выборки и длины анализируемого участка генома. После выравнивания проводились случайные независимые выборки различного размера: с шагом 5 последовательностей и 100 п.н. Для каждой из выборок рассчитывались нуклеотидное разнообразие и стандартное отклонение (СКО). Ожидаемо, что при большем размахе изменчивости увеличивается и максимальная ошибка оценок нуклеотидного разнообразия. Максимальные значения СКО для обеих выборок отмечены при больших размерах выборок (65- 250 последовательностей) и длине анализируемых последовательностей 100 п.н. СКО достигает 20% от среднего значения генетических дистанций при размере длины анализируемого фрагмента более 2800 н.п. митохондриальной выборки и более 600 н.п. для вирусной выборки; и 10% при увеличении длины последовательностей до 7000 и 3500 н.п., соответственно. Можно заключить, что достоверность оценки нуклеотидного разнообразия для более полиморфной популяции достигается при меньшем размере выборки, и длина анализируемых последовательностей в данном случае играет более важную роль, чем их количество.

ВЛИЯНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА БТШ70 НА ПРОДУКЦИЮ TNF-а КЛЕТКАМИ TNP-1

Кочеткова О.Ю., Юринская М.М., Шабарчина Л.И., Винокуров М.Г.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

the-kocha@rambler.ru

При различных патологиях, таких как сепсис, травмы, заболевания сердечно-сосудистой системы, онкологические, инфекционные болезни, и т.д. наблюдается значительная секреция в кровообращение белков теплового шока 70 (БТШ70), играющего важную роль в механизмах

активации иммунной системы млекопитающих. Введение экзогенного рекомбинантного БТШ70 увеличивало выживаемость животных в модели септического шока, а также оказывало защитное действие на активацию нейтрофилов при действии липополисахаридов (ЛПС). Одним из ответов фагоцитов на действие липополисахарида является синтез провоспалительных цитокинов, первым из которых синтезируется фактор некроза опухоли (TNF- α). Нами была определена продукция TNF- α секретлируемая клетками THP-1 при действии ЛПС, после 24 часов инкубирования. Можно заключить, что сами клетки THP-1 нарабатывали 8 пг/мл TNF- α , в то время как добавление ЛПС приводило к увеличению продукции данного цитокина до 65 пг/мл. Инкубирование микрокапсул с THP-1 активировало продукцию TNF- α до 30 пг/мл по сравнению с контролем. Инкубирование микрокапсул с клетками в присутствии ЛПС значительно увеличивало продукцию TNF- α до 55 пг/мл. Этот эффект, по-видимому, обусловлен сорбцией ЛПС на поверхности микрокапсул. Далее нами было показано, что как свободный, так и инкапсулированный БТШ70 демонстрировали снижение уровня продукции TNF- α в присутствии ЛПС до 48 пг/мл. Известно, что сам БТШ70 обладает провоспалительными свойствами, и может связываться с TRL-2 и TRL-4, приводя к активации клеток. Действие инкапсулированного БТШ70 обусловлено, его внутриклеточной локализацией и постепенным выходом в цитоплазму, вследствие деградации оболочки микрокапсулы и, вероятно, взаимодействием с внутриклеточным пулом TRL-2 и TRL-4 рецепторов. Так как внутриклеточная локализация позволяет БТШ70 включаться во внутриклеточные процессы, минуя мембрану клетки и мембранные рецепторы. Полученные результаты позволяют рассматривать возможность использования биodeградируемых микрокапсул для эффективной доставки в клетки фагоцитарной системы белка БТШ70.

СТРУКТУРНАЯ ОСНОВА СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ УРИДИНФОСФОРИЛАЗЫ *VIBRIO CHOLERAЕ* К СУБСТРАТАМ ОБРАТНОЙ РЕАКЦИИ

Лашков А.А.¹, Прокофьев И.И.¹, Габдулхаков А.Г.^{1,2}, Михайлов А.М.¹

¹ФГБУН Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, Москва;

²ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

alashkov83@gmail.com

Синтез свободных азотистых оснований клетками, как эу- так и прокариот, осуществляется или *de novo* или ре-синтезом, который катализируется ферментами класса пиримидинфосфорилаз. Вопрос о структурных аспектах специфичности пиримидинфосфорилазы по отношению к субстратам как прямой, так и обратной ферментативной реакции слабо изучен.

Методом рентгеноструктурного анализа определены структуры комплексов уридинфосфорилазы из патогенной бактерии *Vibrio cholerae* (*VchUPh*) с тиминном (ID PDB: 4OGL, 1.25 Å) и урацилом (ID PDB: 4OEN, 1.9 Å). Расстояние между реакционными атомами, формирующими в процессе обратной реакции синтеза нуклеозида β -N1-гликозидную связь, для тимина меньше чем для урацила. Это приводит к увеличению скорости реакции синтеза с тиминном при идентичном втором субстрате (2-дзезоксирибозо-1-фосфате (dR1P) либо рибозо-1-фосфате (R1P)). Однако, как ориентант первого рода метильная группа тимина наводит положительный заряд на атом N1 лиганда, уменьшая нуклеофильную активность тимина по сравнению с урацилом.

Методом молекулярного моделирования определена структура комплексов *VchUPh*+урацил+R1P и *VchUPh*+тимин+dR1P. Разница в активности уридинфосфорилаз в отношении фосфорилированных моносахаридов обусловлена взаимодействием аминокислотных остатков активного центра с 2-гидроксигруппой R1P и разнице в энергиях конформаций R1P и dR1P. Разность между энергией конформаций лиганда в растворе и связанной с ферментом для R1P = 69.2 кДж/моль, а для dR1P = 37.8 кДж/моль. Высокой энергии конформации соответствует высокая реакционная способность.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-00952 а).

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРОФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

**Леонтьев Д.В.¹, Ищенко А.В.¹, Емельянов В.В.¹, Булавинцева Т.С.², Гетте И.Ф.²,
Данилова И.Г.²**

¹ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России
Б.Н. Ельцина, ²ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
Екатеринбург, Россия

Donshinigami1@mail.ru

Пандемическое распространение сахарного диабета (СД) в современном мире, высокая инвалидизация и смертность больных СД от сосудистых осложнений заболевания привлекает внимание исследователей к механизмам их развития. Последние десятилетия ознаменовались применением высокотехнологичные методов сканирующей микроскопии для оценки морфологии биологических объектов. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) представляет собой метод регистрации силового взаимодействия между поверхностью и образцом, позволяющий получить трёхмерный рельеф поверхности.

В данном исследовании методом АСМ изучалась топография эритроцитов крыс при экспериментальном СД. Заболевание моделировали путем введения животным аллоксана, в результате чего развивалась гипергликемия, в 5-6 раз превышавшая норму, и выраженная клиническая картина СД. Препараты крови были получены от крыс с экспериментальным СД и здоровых животных (контрольная группа) спустя 1 мес. от начала эксперимента. Мазки крови готовили на подложке из свежесколотой слюды. Исследование проводилось в воздушной среде на микроскопе Интегра Прима НТ-МДТ, полуконтактным методом, кантилевером марки NSG03 Golden Silicon Probes при частоте колебаний 90 кГц. Оценивали изменение формы эритроцитов, их диаметр, высоту, а также параметр биомеханических свойств мембраны - адгезию. Статистическая обработка результатов исследования производилась в программном пакете «Biostatistica» с применением критериев Стьюдента и χ^2 .

Эритроциты здоровых крыс имели типичную для данного вида животных форму и размеры. Напротив, большинство эритроцитов особей с экспериментальным СД имели неровную поверхность, их мембрана образовывала шиповидные выросты. Доля таких клеток (эхиноцитов) составляла при СД 78,9 %, в контрольной группе – 17,6% ($p < 0,001$). Эритроциты крыс с СД также имели меньший диаметр ($7,86 \pm 0,17$ против $8,81 \pm 0,17$ мкм в контроле, $p_{st} < 0,001$) и большую высоту ($425,4 \pm 17,1$ против $377,5 \pm 13,5$ нм в контроле, $p_{st} = 0,035$). Клетки животных с СД характеризовались меньшими значениями адгезии, по сравнению с контролем: $59,3 \pm 4,9$ против $90,6 \pm 8,0$ нН, $p_{st} = 0,002$.

Предшествующие исследования методом АСМ морфологии эритроцитов при СД у человека не выявили столь грубого нарушения морфологии клеток. Полученные результаты мы связываем с выраженной гипергликемией, вызывающей выход воды из клеток по законам осмоса, а также с дефектами белков мембраны и цитоскелета эритроцитов, дефицитом АТФ и нарушением работы мембранных АТФ-аз в результате гликирования белков.

КЛИЕНТ-СЕРВЕРНАЯ АРХИТЕКТУРА ПРОГРАММЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Лихачев И.В., Балабаев Н.К.

ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

ilya_lihachev@mail.ru

Методом моделирования молекулярной динамики пользуются во многих научных лабораториях. Текущая методика проведения исследований подразумевает четкое разделение работ на два этапа. Сначала проводится сам численный эксперимент. Вычислительно это самый трудоемкий этап требующий больших вычислительных ресурсов. Нередко для него применяются вычислительные кластеры (суперкомпьютеры). Вычислительный эксперимент может длиться несколько дней, недель, месяцев. Результатом МД-эксперимента является

траектория молекулярной динамики – записи координат атомов молекулярной системы, выполненные через определенные промежутки времени, а также другие сопутствующие данные. Второй этап исследований – анализ полученных результатов. Программы анализа траекторий молекулярной динамики, как правило, способны визуализировать МД-эксперимент в форме «молекулярного кино», а также строить различные характеристики, основанные на геометрии системы.

Данная работа посвящена объединению программы моделирования молекулярной динамики, выполненной по мотивам PUMA, и программы анализа траекторий молекулярной динамики TAMM посредством клиент-серверной технологии, обеспечиваемой протоколом TCP/IP. Обе программы разработаны в Лаборатории молекулярной динамики ИМПБ РАН.

Исследователь получает интерактивное взаимодействие с процессом моделирования. Рассчитанные координаты атомов поступают с вычислительного узла на персональный компьютер, где они визуализируются в режиме реального времени. Помимо координат, возможна пересылка и отображение любой информации, получаемой в ходе МД-эксперимента: компонент энергии, температуры, размеров расчетной ячейки. Также возможно интерактивное управление программой моделирования молекулярной динамики, заключающее в пересылке новых параметров моделирования. Например, вначале релаксируется МД-система, постепенно прибавляется шаг численного интегрирования, меняются параметры термостата (вязкость среды), затем прилагается к заданным атомам внешняя сила.

Клиент-серверная связка предполагает подключение к одной вычислительной программе произвольного количества клиентов.

Благодаря клиент-серверной архитектуре взаимодействия программ моделирования молекулярной динамики и анализа полученных результатов исследователь получает гибкий механизм изучения молекулярных объектов на теоретическом уровне, объединяя удобство интерактивного взаимодействия с персональным компьютером и высокую производительность вычислительного кластера.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ НЕПРЕРЫВНЫХ И МОДУЛИРОВАННЫХ АКУСТИЧЕСКИХ ВОЛН НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ

Лысенко Ю.Н.^{1,2}, Перов Д.В.^{1,2}, Пашовкин Т.Н.¹, Гапеев А.Б.^{1,2}

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушинский
государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

l.yura92@inbox.ru

Исследование механизмов биологического действия физических факторов различной природы и, в частности, акустических волн является особенно актуальным в связи с увеличением уровней искусственных акустических полей по сравнению с воздействующими на человека фоновыми уровнями. Кроме того, в последние годы все больше расширяется применение акустических полей в медицине для диагностики и терапии, что требует определения допустимых пределов безопасного акустического воздействия. При изучении действия акустических волн особое внимание уделяют изучению биохимических и физиологических изменений на клеточном уровне. С точки зрения сохранения и передачи генетической информации главная роль принадлежит молекуле ДНК, и ее возможные повреждения под действием акустических полей могут иметь важные последствия для всей биологической системы. Оценка возможности повреждения ДНК акустическими полями является ключевой, в первую очередь, в медицине при определении режимов терапевтического воздействия ультразвука, когда повреждение биологических систем является недопустимым. Кроме того, при совместном действии ультразвука с заданными временными и энергетическими параметрами и препаратов для химиотерапии появляется возможность усилить эффект подавления роста раковых клеток.

Цель работы заключалась в исследовании действия непрерывных (несущая частота 0.88 МГц) и модулированных (в диапазоне частот модуляции 5 - 90 Гц) ультразвуковых волн терапевтического диапазона интенсивностей (0 – 2 Вт/см²) на структуру хроматина лейкоцитов крови. Эксперименты выполнены с использованием общей фракции лейкоцитов

периферической крови мышей-самцов линии Kv:SHK. Клетки, иммобилизованные в агарозный гель, облучали ультразвуковыми волнами в течение 0 – 20 мин. Непосредственно после облучения уровень повреждений ДНК оценивали с использованием щелочного варианта метода "комета-тест".

В результате проведенных исследований показано, что ультразвуковые волны в диапазоне использованных частот модуляции, интенсивностей и длительностей экспозиции не вызывают прямых повреждений ДНК, выявляемых методом "комета-тест". Однако обнаружен эффект другой природы, проявляющийся в деконденсации хроматина лейкоцитов периферической крови мыши, что выражалось в обратимом изменении размеров нуклеоида, связанном с расплетением молекулы ДНК. Установлено, что вызванные ультразвуком изменения в молекуле ДНК возрастают при увеличении действующих интенсивностей. При этом эффективность импульсно-модулированного ультразвука была выше. Зависимость величины эффекта от длительности экспозиции имела колоколообразный характер с максимумом при экспозиции в течение 10 мин. С увеличением частоты импульсной модуляции ультразвука в диапазоне 5 – 90 Гц величина эффекта монотонно росла по всей видимости за счёт увеличения количества фронтов импульсов, на границе которых при скачках давления могут генерироваться короткоживущие активные формы кислорода. Полученные результаты дают основание полагать, что механизмы деконденсации хроматина под влиянием ультразвука с определенными параметрами могут быть связаны с действием короткоживущих активных форм кислорода на ДНК.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА СОСТОЯНИЕ НАТРИЙ-КАЛЬЦИЕВОЙ ОБМЕННОЙ СИСТЕМЫ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА КРЫСЫ

Маслов О.В., Винокуров А.А., Богачева Е.В.

ГБОУ ВПО Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко
Министерства здравоохранения РФ, Воронеж, Россия

theorangenight@rambler.ru

В последние годы активно изучается действие электромагнитных полей (ЭМП) радиочастотного диапазона свыше 900 МГц на живые организмы, тогда как диапазон метровых длин волн (30-300 МГц) оставался в стороне от основных направлений медико-биологических исследований. В различных исследованиях установлены изменения функций сердечно-сосудистой системы при действии ЭМП – снижение артериального давления (гипотония), замедления ритма сокращения сердца (брадикардия) и замедление внутрижелудочковой проводимости. Взаимодействие ЭМП с биологическими объектами приводит к поглощению в них части энергии поля, вследствие чего могут возникать биологические эффекты облучения. Количественной характеристикой поглощения энергии ЭМП является обще признанная величина удельной поглощенной мощности (УПМ), выражаемой в Вт/кг. Для изучения дозозависимых механизмов возможного неблагоприятного влияния ЭМП РЧ на сердечно-сосудистую систему был проведен ряд исследований, включающих теоретическую дозиметрию и биологический эксперимент на модели изолированного сердца крысы по методу Лангендорфа. Условия экспозиции сердца ЭМП обеспечивались работой в режиме передачи носимой радиостанцией Радий-301 (Ижевский радиозавод, Россия) на частоте 171 МГц напряженностью 160 В/м. Рассчитанное с использованием программы SEMCAD X v.14.8 («SPEAG AG», Швейцария) среднее значение УПМ составило 0,004 Вт/кг. Результаты экспериментальных исследований показали, что 3-х минутное облучение сердца сопровождается угнетением аккумуляции ионов Са в реверсном направлении Na-Са обмена и более активным выведением ионов Са из сердца при 3-х минутном облучении при работе Na-Са обмена в прямом направлении. Скорость аккумуляции ионов Са сердцем после воздействия ЭМП продолжала ослабляться. Перевод Na-Са обмена в сторону выведения катиона из сердца отличался еще более существенным ускорением этого процесса по сравнению с контролем.

С помощью AFLP метода показано существование генетического расстояния между популяциями, обитающими на территориях с различными уровнями техногенного загрязнения

почвы. Зависимость между генетическим и географическим расстоянием между образцами при этом отсутствовала. Кроме этого, генетическое разнообразие не отличалось в группах дождевых червей с разных экспериментальных участков.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА НЕФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВ ОРХИДНЫХ И ВЕРЕСКОВЫХ

Матвеева М.В.¹, Логачева М.Д.², Гусев О.А.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; ²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

rinne.swan@gmail.com

Способность к фотосинтезу – одна из ключевых характеристик растений. Пластиды – органеллы симбиотического происхождения, играют ключевую роль в данном процессе и имеют собственный геном. Потеря фотосинтетической активности у некоторых растений приводит к необратимой смене типа питания с автотрофного на гетеротрофный. По-видимому, это ведет к ослаблению воздействия отбора на гены пластид и теоретически может привести к полному исчезновению генома. Несмотря на это, подавляющее большинство нефотосинтезирующих растений сохраняют пластидные геномы, хотя и в сильно редуцированном состоянии.

В 2012 году была предложена модель деградации пластидного генома (Barrett and Davis, 2012). Данная модель показала, что в первую очередь элиминируются гены, ответственные за фотосинтетическую активность хлоропласта, тогда как гены домашнего хозяйства продолжают функционировать.

Были получены и проанализированы пластомеры нефотосинтезирующих растений семейств Вересковых (*Monotropa hipopitys*) и Орхидных (*Wulfschlaegelia aphylla*). Аннотации *Monotropa hipopitys* и *Wulfschlaegelia aphylla*, полученные с CPГAVAS свидетельствуют о деградации систем генов, отвечающих за фотосинтез, и частичной потере генов домашнего хозяйства. Кроме того, *Wulfschlaegelia aphylla* показывает меньшую степень редукции систем генов домашнего хозяйства, так как такие гены как *clpP* (протеолитическая субъединица АТФ-зависимой протеазы) не элиминировались с течением времени.

Barrett, C. F. The plastid genome of the mycoheterotrophic *Corallorhiza striata* (Orchidaceae) is in the relatively early stages of degradation/C. F. Barrett; J. I. Davis. *American Journal of Botany* 99(9): 1513–1523. 2012

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

ИНГИБИТОР WASP БЕЛКОВ ВИСКОСТАТИН ПОДАВЛЯЕТ ТРАНСПОРТ Na⁺ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

avm242@hotmail.ru

Кожа амфибий и другие изолированные эпителиальные системы являются классическими модельными объектами для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны. Известно, что актиновый цитоскелет участвует в регуляции трансэпителиального транспорта Na⁺ и активности многих Na⁺- транспортирующих белков, которые локализованы с актиновыми филаментами и актин-связывающими белками (анкирином и спектрином). Обнаружено, что в различных эпителиях наблюдается различие во влиянии архитектуры актинового цитоскелета на активность Na⁺- транспортирующих белков. Так, для клеток почки лягушки линии А6 показано, что фармакологические агенты, разрушающие F-актин, стимулируют транспорт Na⁺, тогда как в коже и мочевом пузыре амфибий, разрушение

микрофиламентов под действием цитохалазинов приводит к ингибированию транспорта Na^+ , и сопровождается снижением трансэпителиального потенциала.

Ключевую роль в формировании разветвленной сети актиновых филаментов играет белковый комплекс Arp2/3 (actin – related proteins), состоящий из семи полипептидов. Для активации Arp2/3 комплекса необходимы белки семейства WASP (Wiskott – Aldrich Syndrome proteins). В связи с этим, представлялось интересным исследовать возможное участие WASP белков в регуляции транспорта Na^+ в коже лягушки *Rana temporaria*. В экспериментах использовали низкомолекулярный агент вискостатин, стабилизирующий неактивную конформацию WASP белков.

Для регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ) кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала. В интервалах между измерениями ВАХ трансэпителиальный потенциал (V_T) кожи поддерживали при потенциале открытой цепи V_{OC} ($V_{OC} = V_T$ при трансэпителиальном токе $I_T = 0$). Из ВАХ определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания I_{SC} ($I_{SC} = I_T$ при $V_T = 0$), V_{OC} и трансэпителиальную проводимость g_T . Транспорт Na^+ оценивали как амилорид-чувствительный I_{SC} . Статистический анализ проводили с применением t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде $x \pm s_x$.

Впервые показано, что вискостатин подавляет транспорт Na^+ в коже лягушки. Так, обработка кожи 50 мкМ вискостатина (по данным 10 экспериментов) снижает I_{SC} на $38.95 \pm 5.35\%$, V_{OC} – на $18.56 \pm 4.08\%$, а g_T – на $25.64 \pm 10.34\%$. Полученные данные свидетельствуют об участии WASP белков в регуляции транспорта Na^+ в коже лягушки.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА МЕТАЛЛОПРОТЕАЗЫ В ГЕНОМАХ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *MORGANELLA MORGANII*

Миннуллина Л.Ф., Замалютдинова Н.М., Марданова А.М.

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

masaco@mail.ru

Известно, что в развитие бактериальных инфекций важную роль играют металлопротеазы, синтезируемые большинством патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Одним из таких условных патогенов является *Morganella morganii* – возбудитель широкого спектра больничных инфекций, включающих комплексные инфекции мочевыводящих путей, раневые инфекции и бактериемию. Несмотря на это, ни одна из металлопротеаз этой бактерии на сегодняшний день не изучена.

Настоящая работа посвящена идентификации и биоинформационному анализу гена внутриклеточной металлопротеазы в геномах клинических изолятов *M. morganii*: негемолитического штамма *M. morganii* 1 и гемолитического штамма *M. morganii* 4. Были сконструированы праймеры к гену гипотетической металлопротеазы аннотированного штамма *M. morganii* КТ (AN CP004345.1), которые использовали для идентификации гомологичных генов в геномах *M. morganii* 1 и *M. morganii* 4. Выравнивание нуклеотидных последовательностей секвенированных ПЦР-продуктов позволило выявить ОРС размером в 1101 н.п., обладающие 95% и 99% гомологией с геном *M. morganii* КТ соответственно. Ген *M. morganii* 1 содержал два тандемно расположенных стоп-кодона. Сравнительный анализ транслированных аминокислотных последовательностей этих генов с использованием программ BLAST, MUSCLE и BioEdit показал, что степень их идентичности составляет 96% (при сходстве 98%) для *M. morganii* 1 и 99% (при сходстве 100%) для *M. morganii* 4 относительно последовательности *M. morganii* КТ. Аминокислотные замещения в активном центре и сайте связывания цинка у изучаемых белков не обнаружены.

С помощью программы BPRON в регуляторной области генов металлопротеаз проводился поиск консервативных последовательностей «-10» и «-35» и сайтов связывания транскрипционных факторов. Было показано, что сайты «-10» и «-35» у всех трех штаммов расположены на расстоянии 41 и 62 н.о. от стартового кодона соответственно. В регуляторной области гена *M. morganii* 1 обнаружен сайт связывания σ^{24} -субъединицы РНК-полимеразы. Никаких участков связывания регуляторных белков в последовательностях генов *M. morganii* 4 и *M. morganii* КТ данной программой выявлено не было. В регуляторной области всех генов была идентифицирована последовательность Шайна-Дальгарно, а также последовательность,

обладающая частичной гомологией с последовательностью сайта связывания САР-белка (TGTGAN₆TCACA).

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной КФУ для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 14-83).

КОМПЛЕКСНАЯ СИСТЕМА ИНФОРМАЦИОННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПНЦ РАН

Митрошин И.А.¹, Петров А.Б.^{1,2}

¹ФГБУН Библиотека по естественным наукам РАН, ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

imitros@yandex.ru

Развитие системы информационного обеспечения науки является частью национальной стратегии информационного развития и информационной политики РФ. Сотрудникам Центральной библиотеки Пушкинского научного центра РАН (ПНЦ РАН), отдел Библиотеки по естественным наукам РАН, удалось создать комплексную систему по информационно-библиотечному обеспечению научных исследований в ПНЦ РАН, соответствующую мировым моделям и стандартам развития в этой области. Научная задача библиотеки - оптимизация обеспечения научных исследований путем разработки модели системы обеспечения, включающей комплекс современных технологий, библиометрических методов. В рамках развития комплексной библиотечной системы и интеграции разрозненных научных информационных ресурсов и библиотечно-информационных услуг в ПНЦ, представлены результаты по развитию и совершенствованию собственных электронных ресурсов, в частности баз данных трудов сотрудников Центра.

Для этого принято решение собрать воедино все труды всех работников НИИ ПНЦ и создать новую информационную систему, основанную на всех поступающих данных, таких как публикации ученых, защищенные диссертации, информацию о сотрудниках, где он участвуют в качестве руководителя или в качестве оппонента, а также их патентная активность. Основная цель данной системы - создание отправной точки для получения исчерпывающей необходимой информации о результатах научной и патентной деятельности ученых ПНЦ РАН.

Для поиска публикаций была создана универсальная форма. Поиск проводится по первому автору или соавторам, а также по редактору, если это сборник статей. Следующие поля, по которым можно искать – название, источник и год публикации. Поисковые запросы вводятся на русском или английском языках. Есть возможность выбора институтов, по базам которых производится выборка научных публикаций. Это позволяет находить статьи, которые написаны совместно с авторами из других институтов Пушкинского научного центра.

При отображении результатов, можно не открывая новых форм провести поиск по смежным базам (диссертации и патенты). Выбрав нужного автора и кликнув на его фамилию, есть возможность посмотреть информацию о его диссертациях и патентах.

Таким образом, создание универсальной формы уменьшает общее количество форм на сайте библиотеки и расширяет функционал поиска. В данный момент ведется работа, связанная с объектами интеллектуальной собственности. Планируется сделать систему с поиском по ключевым словам и направлениям исследований. Тестовая версия поисковой системы доступна по адресу <http://cbp.iteb.psn.ru/Scripts/newdb/form.html>.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МЕЖПОЛЯРНЫХ МИКРОТРУБОЧЕК ВЕРЕТЕНА ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК ДРОЗОФИЛЫ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА FRAP

Мунзарова А.Ф.

ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет; ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН,
Новосибирск, Россия

alina.munzarova@gmail.com

Работа посвящена исследованию динамики микротрубочек веретена деления S2 клеток дрозофилы с помощью метода *FRAP* (*fluorescence recovery after photobleaching*) в условиях, когда молекулы тубулина помечены RFP. В этом методе прижизненного исследования клетки проводится фотообесцвечивание участка цитоплазмы и последующее измерение скорости заполнения этого участка во времени. Ясно, что скорость заполнения фотообесцвеченного пятна некоторым образом характеризует процессы полимеризации микротрубочек. Однако детали того, за счет чего происходит восстановление флуоресценции участков веретена, не ясны.

На кривых восстановления флуоресценции после фотообесцвечивания (из литературных данных) мы заметили существование фракции микротрубочек веретена, флуоресценция которых не восстанавливается во *FRAP* экспериментах с маркированными тубулинами. Мы изучили эту фракцию методом "обратного" *FRAP* - когда обесцвечивается вся клетка за исключением изучаемой области. Мы показали, что в метафазном веретене фракция не обменивающихся с пулом обесцвеченных тубулинов микротрубочек велика. В то же время, в телофазном веретене эта фракция относительно мала. С точки зрения биологии, кинетохорные микротрубочки в телофазном веретене должны отсутствовать, поэтому все микротрубочки должны быть межполюсными. Наши эксперименты позволяют считать, что межполюсные микротрубочки являются той частью веретена, которая не обменивается с пулом клеточного тубулина.

В то же время, проведенные эксперименты позволили нам заметить, что соответствие межполюсных микротрубочек и не обменивающейся фракции не является полным. Так мы заметили, что среди кинетохорных микротрубочек имеется фракция необменивающихся, а среди межполюсных имеется фракция, способная обмениваться.

Мы полагаем, что предложенный подход позволяет проводить визуализацию межполюсных микротрубочек веретена, что важно при изучении мутаций белков веретена. Кроме того, предложенный метод исследования позволит проводить изучение таких цитологических структур, как МТОС (*microtubule-organizing center*) и аугминовых белков, которые, вероятно, ответственны за неполное соответствие полюсных и необменивающихся микротрубочек.

Работа поддержана мегагрантом "The mechanisms of kinetochore-driven microtubule formation in *Drosophila*", возглавляемым проф. M.Gatti.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ФОСФОЛИПАЗ А2 4-БРОМФЕНАЦИЛБРОМИДА НА ЭФФЕКТ МОЛИКСАНА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ CA²⁺ В МАКРОФАГАХ

Наумова А.А., Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Бутов С.Н., Антонов В.Г.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

aleksmyau@yandex.ru

В настоящее время в клиническую практику введён целый ряд препаратов, изменяющих окислительно-восстановительный (редокс-) статус клеток и влияющих на различные физиологические и патологические процессы. Так, препарат моликсан® (комплекс динатриевой соли окисленного глутатиона с d-металлом в наноконцентрации и нуклеозида инозина, «ФАРМА-ВАМ», Санкт-Петербург) используется как иммуномодулятор и гепатопротектор в терапии онкологических заболеваний и вирусных инфекций.

Ранее нами было впервые обнаружено, что моликсан увеличивает внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), вызывая мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргин-чувствительных Ca^{2+} -депо и последующий вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы.

Известно, что одним из ключевых событий в активации макрофагов является продукция эйкозаноидов – продуктов биологического окисления полиненасыщенной арахидоновой кислоты под действием ферментов липоксигеназ, циклооксигеназ и цитохромов P450 (эпоксигеназ). Инициация каскада метаболизма арахидоновой кислоты происходит с участием фосфолипаз A_2 , которые высвобождают жирные кислоты в положении sn-2 мембранных фосфолипидов. Большинство фосфолипаз A_2 содержат остатки цистеина и дисульфидные связи, которые могут являться мишенями для редокс-регуляции. Ранее нами было впервые установлено, что ферменты и/или продукты всех трёх основных путей метаболизма арахидоновой кислоты играют важную роль в регуляции Ca^{2+} -ответов, вызываемых моликсаном. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать участие фосфолипаз A_2 в действии моликсана на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах.

Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный Ca^{2+} -зонд Fura-2 AM. Для выявления участия фосфолипаз A_2 был использован специфический ингибитор этих ферментов 4-бромфенацилбромид. Впервые установлено, что предварительная инкубация клеток с 40 мкМ 4-бромфенацилбромида в течение 5 мин вызывает существенное подавление как мобилизации Ca^{2+} , так и последующего входа Ca^{2+} , индуцированных моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. Полученные результаты свидетельствуют о возможном участии фосфолипаз A_2 , высвобождающих арахидоновую кислоту из мембранных липидов, в действии препарата моликсан на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах.

АРХИТЕКТУРА И ФУНКЦИОНАЛ ОБЛАЧНОГО РЕСУРСА MATHBRAIN

Оплачко Е.С., Рыкунов С.Д., Устинин М.Н.

ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

oplachkoe@gmail.com

Разработан интернет-ресурс для анализа данных энцефалографии, предоставляющий пользователям сервис по модели «Приложение как Сервис» (Software as a Service). Доступ к ресурсу можно получить по адресу mathbrain.ru. На текущий момент пользователю доступен следующий функционал:

аппроксимация спектра с задаваемыми параметрами промежутка частот, который будет анализироваться;

восстановление спектра с задаваемыми параметрами промежутка частот, которые будут анализироваться, частоты дискретизации и промежутков времени;

решение обратной задачи магнитной энцефалографии;

анализ энцефалограмм с помощью преобразования Карунева-Лоэва;

анализ энцефалограмм с помощью метода анализа независимых компонент;

количественный анализ энцефалограмм.

Для организации безопасного доступа к системе был разработан модуль авторизации и разграничения полномочий пользователей на основе логинов и паролей. Предусмотрен демонстрационный режим работы ресурса. В этом режиме предоставляется доступ к заранее сформированным входным данным, которыми можно воспользоваться для получения представления о функционале системы. Все расчеты в демонстрационном режиме производятся в режиме реального времени.

Наиболее сложным в реализации было решение обратной задачи МЭГ, т.к. оно требовало асинхронной обработки данных, а также построения нескольких графиков на основе сформированных в реальном времени данных в формате JSON. Более того, было предъявлено требование интерактивности данных графиков, что является ресурсоемкой задачей. Для построения интерактивных графиков была использована библиотека с открытым кодом mpld3.

Веб-интерфейс ресурса написан на языках PHP и JavaScript. Используются библиотеки JQuery и CSS Bootstrap. Вычислительный бэкенд написан на языке Python. Для связи между веб-интерфейсом и вычислительным модулем авторами работы был разработан механизм передачи сообщений на базе протокола JSONRPC.

Пользовательский интерфейс доступен на двух языках: русском и английском. Мультиязычность реализована с помощью .ini файлов. Заданный пользователем язык запоминается в cookie и проверяется при каждом обновлении страницы.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проекты 14-07-31309, 14-07-00636, 13-07-00162, 13-07-12183, а также при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН 43П.

РАДИАЦИОННАЯ ЗАЩИТА ПАЦИЕНТОВ ПРИ МЕДИЦИНСКОМ ОБЛУЧЕНИИ. СПОСОБ СНИЖЕНИЯ ЛУЧЕВОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ МСКТ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

Осипов М.В.¹, Лебедев Н.И.², Фомин Е.П.²

¹ФГУП Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России, ²ФГБУЗ Центральная медико-санитарная часть №71 ФМБА России, Челябинская обл., Россия

Ferrum76@mail.ru

Введение. Возрастающая роль медицинского излучения в современном мире предъявляет особые требования к радиационной безопасности пациентов. Наряду с высокой диагностической ценностью, медицинское ионизирующее излучение при проведении рентгеновских процедур может являться фактором риска возникновения заболеваний, в том числе онкологических. Основными путями решения этой проблемы являются внедрение контрольно-диагностических уровней облучения пациентов и оптимизация методики проведения рентгеновских процедур, связанных с получением значительной дозы медицинского облучения, таких как мульти-спиральная компьютерная томография (МСКТ).

Цели и задачи. Целью исследования являлась оценка влияния исключения нативной фазы в исследованиях брюшной полости с болюсным контрастным усилением на диагностическую информативность полученных изображений, а также количественное определение снижения величины дозовой нагрузки на пациента.

Материал и методы. Исследование проведено на базе радиологического отделения ЦМСЧ-71 на 16-срезовом компьютерном томографе «Bright Speed Elite» фирмы «General Electric», оснащённом автоматическим двухколбовым инжектором для внутривенного болюсного введения контрастного вещества. Всего за период с начала эксплуатации томографа с 07.02.2012 по 23.01.2014 гг. проведено 5103 МСКТ, обследовано 4933 пациента с различной патологией. Результаты заносились в базу данных, из которой затем были выбраны все МСКТ брюшной полости с болюсным контрастированием и без него.

Результаты. При исключении нативной фазы сократилось время исследования и средняя доза за одну процедуру. Количественно уменьшение дозы в исследовании без нативной фазы в среднем составило 3,8 мЗв на пациента, что не сопровождалось потерей качества диагностической информации. Лишь в двух случаях использование нативной фазы было дополнительно проведено, исходя из диагностической целесообразности.

Выводы. Результаты исследования показали, что проведение МСКТ без нативной фазы позволяет существенно (до 30 %) снизить дозовую нагрузку на пациента без потери качества диагностической информации. Тем не менее, нативная фаза должна применяться в случаях, когда это необходимо, если отсутствие её может осложнить установление диагноза. Предложенный способ позволяет снизить дозу излучения на пациента и увеличить ресурс эксплуатируемого оборудования, что немаловажно в условиях современной действительности. В связи со значительной дозовой нагрузкой на пациента, любые КТ-исследования должны быть тщательно обоснованы.

ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИНОМИЦИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ С ПОТЕНЦИАЛЬНЫМИ ПЕРЕНОСЧИКАМИ

Пантюшенко И.В.¹, Ковалев В.И.², Векшин Н.Л.²

¹ФГБОУ ВПО Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва; ²ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

kovalev@chemist.com

Для улучшения проникновения гетероциклических антибиотиков, в частности, актиномицина в клетку можно использовать различные молекулы-переносчики. В качестве молекул-переносчиков могут быть использованы агрегаты пуриновых оснований (гуанина, аденина), тимина, кластеры кофеина, фрагментированная ДНК, фолиевая кислота. Ряд авторов изучал подобные комплексы с помощью ЯМР и рентгеноструктурного анализа в модельных (не терапевтических) условиях при очень высокой концентрации антибиотика. В лаборатории ИБК РАН с помощью флуоресцентного производного 7-аминоактиномицина удалось изучить комплексы при физиологических (низких) концентрациях антибиотика. Также с помощью предложенного флуоресцентного метода удалось определить энергию взаимодействия 7-аминоактиномицина с потенциальными молекулами-переносчиками. То есть, определить потенциально лучший переносчик. В случае пуриновых оснований (гуанин, аденин) и кофеина энергия взаимодействия достигала 7 ккал/моль, в случае с тиминем получали чуть меньшую энергию около 6 ккал/моль, в общем это мало отличалось от случая с фрагментированной ДНК (7,7 ккал/моль). Это означает, что взаимодействие антибиотика происходит преимущественно с пуриновыми основаниями ДНК, а дезоксирибоза и остаток фосфорной кислоты вносят в энергию взаимодействия очень малый вклад. В случае с фолиевой кислотой наблюдали взаимное тушение флуоресценции фолиевой кислоты и антибиотика, то есть между хромофорной группой фолиевой кислоты и антибиотика есть взаимодействие. С помощью спектров излучения продемонстрировано, при фотовозбуждении антибиотик может высвобождаться из кластеров в водную фазу. Однако, при фотовозбуждении антибиотик не выходит из фрагментированной ДНК. Это означает, что во взаимодействие антибиотика с ДНК большую роль играет пептидная составляющая антибиотика, так как данный флуоресцентный метод позволяет учесть взаимодействия между хромофорами, но не определить взаимодействие пептидной части. Также, это определяется не столько энтальпийной составляющей (почти одинаковой и в случае агрегатов пуриновых оснований и кластеров кофеина), сколько энтропийной составляющей, т.е. стерическим фактором – нахождением антибиотика в гидрофобной области расплетённых участков ДНК. Предложенный подход нахождения энергии взаимодействия может применяться для самых разных биоструктур, где используются флуоресцентные зонды.

Работа поддержана грантом РФФИ мол_нр № 14-34-50366 «Нуклеотидные наноструктуры для доставки гетероциклических противоопухолевых антибиотиков».

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В СПЕРМИЯХ БЕЛОРЫБИЦЫ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ КРИОЗАЩИТНЫХ РАСТВОРОВ

Перов Д.В.^{1,2}, Андреев А.А.^{1,2}, Лысенко Ю.Н.^{1,2}, Краси́льникова А.А.³, Тихомиров А.М.³, Гапеев А.Б.^{1,2}

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино; ³Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону, Россия

super-as@list.ru

Одной из задач криобиологии является поиск методов защиты клеток от повреждений при криоконсервации. В настоящее время известно около сотни различных веществ, обладающих криозащитным действием и апробированных на различных биологических объектах, однако детально изучены только несколько десятков веществ, широко используемых в практике

низкотемпературного консервирования. Цель работы заключалась в подборе криопротекторов, при использовании которых повреждения ДНК спермиев рыб при криоконсервации оказались бы минимальными.

В качестве исследуемого материала были использованы спермии белорыбицы (*Stenodus leucichthys leucichthis*, *Guldenstadt, 1772*), которые были получены от двух самцов, предоставленные Александровским рыбозаводным заводом (Астраханская обл.) и замороженные с использованием пяти различающихся по составу криозащитных растворов с 10% ДМСО в качестве криопротектора. Оценку повреждающего действия процедур криоконсервации на ДНК спермиев рыб осуществляли с помощью щелочного варианта метода "комета-тест" (электрофорез нуклеоидов индивидуальных клеток в геле агарозы, метод ДНК-комет). В качестве индикатора величины поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в "хвосте кометы", которое рассчитывали по анализу 80-100 изображений "комет". Статистический анализ данных проводили с использованием ANOVA и множественного критерия Даннета с ограничением уровня значимости ($p < 0.001$).

В результате проведенных исследований было установлено, что наибольшим защитным эффектом на ДНК спермиев обладают те криозащитные растворы, в состав которых входили антиоксидант растительного происхождения (эпигаллокатехин), маннитол и сахара. Остальные из исследованных растворов были малоэффективны. При оценке подвижности спермиев было обнаружено, что в контроле (у свежей спермы) время подвижного состояния спермиев (время за которое 90% спермиев прекращает движение) составило 365 и 260 с у 1-го и 2-го самцов соответственно. Для эффективных криозащитных растворов время подвижного состояния размороженных спермиев изменилось незначительно до 298 и 253 с. В остальных растворах число подвижных спермиев было незначительным, что явно демонстрирует высокую степень повреждений при криоконсервации. Полученные результаты указывает на то, что криозащитные свойства растворов, обладающих максимальной эффективностью, связаны с наличием в них антиоксидантов, предотвращающих окислительные процессы, происходящие при криоконсервации, а также с наличием сахаров, которые заметно влияют на размеры и форму кристаллов льда, образующихся при замораживании.

АТЛАС ПАРЦИАЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ОТДЕЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Полянин А.Г., Рыкунов С.Д., Сычев В.В., Устинин М.Н.

ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

polyandroid@ya.ru

Была разработана технология выделения парциальных спектров активности головного мозга человека по данным реконструкции функциональной структуры мозга человека на основе данных магнитной энцефалографии.

Технология включает в себя следующие этапы: - построение функциональной томограммы по данным магнитной энцефалографии; - сегментация магниторезонансной томограммы головы конкретного субъекта в полуавтоматическом режиме, с использованием программного комплекса Slicer 3D; - уточнение полученной сегментации с использованием программы ИТК-SNAP и анатомических атласов головного мозга; - создание масок на основе сегментации и их наложение на функциональную томограмму.

Результатом применения данной технологии являются парциальные спектры активности головного мозга человека, соответствующие определенным анатомическим структурам.

Расчеты проводились с использованием авторского программного обеспечения на вычислительных ресурсах многопроцессорного Linux-кластера ИМПБ РАН.

Были получены парциальные спектры таламуса, мозжечка и затылочной доли мозга для 20 наборов экспериментальных данных. Пространственное разрешение полученных атласов не менее 3 мм, частотное – не менее 1/300 Гц.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проекты 14-07-31309, 14-07-00636, 13-07-00162, 13-07-12183, а также при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН 43П.

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ «ГОРЯЧИХ ТОЧЕК» МУТАЦИЙ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА СВЯЗАННЫХ С ПРОТЯЖЕННЫМИ ПОВТОРЯЮЩИМИСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ

Пятков М.И., Панкратов А.Н.

ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

mpyatkov@gmail.com

Известно, что возникновение некоторых генетических заболеваний человека тесно связано с перестройками в геноме. Одним из механизмов, вызывающих подобные события, является рекомбинация между протяженными повторяющимися последовательностями, в результате чего происходят инверсии, делеции и транслокации участков генома, в которых могут находиться гены. Однако к настоящему времени данные о расположении протяженных повторов в геноме человека являются разрозненными и неупорядоченными. В настоящей работе предлагается поиск и локализация протяженных повторяющихся последовательностей в геноме человека с последующим наложением повторов на генетическую карту известных заболеваний и статистический анализ с целью установления взаимосвязи между повторами и перестройками генома.

В качестве пробного объекта исследования была выбрана X-хромосома, поскольку для нее известно значительное количество заболеваний, связанных с хромосомными перестройками. Был произведен поиск протяженных повторов со следующими параметрами: длина повтора > 2000 н.п., расстояние между повторами от 1000 до 100000 н.п., сходство между копиями > 90%. Из общего числа найденных повторов были выбраны те, которые фланкируют кодирующие участки генома. В результате были обнаружены как ранее известные «горячие точки рекомбинации», выбранные в качестве контроля (ген EMD (мышечная дистрофия) и ген F8 (гемофилия)), так и ряд генов, требующих более детального анализа для установлении связи с генетическими заболеваниями, однако уже сейчас можно сказать, что некоторые из них являются онкогенами. В дальнейшем предполагается продолжить поиск в остальных хромосомах человека и суммировать результаты в виде базы данных.

Основным программным средством для работы является программа SBARS (<http://mpyatkov.github.io/sbars/>). Вся информация по данному проекту будет агрегироваться на сайте <http://genome.psn.ru>. Работа поддержана проектами РФФИ №14-07-31306, №14-07-00924

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕОБРАЗОВАННОГО ПОЛУПРОВОДНИКОВЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ СВЕТА НА РАЗВИТИЕ ДОИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ IN VITRO

Решетников Д.А.^{1,2}, Фахранурова Л.И.¹, Чернов А.С.¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ²ФГБОУ ВПО
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

152no@bk.ru

В настоящее время чрезвычайно острой является проблема сохранения репродуктивной способности человека, для чего активно используют вспомогательные репродуктивные технологии. Однако их эффективность довольно низкая вследствие снижения жизнеспособности эмбрионов в результате манипуляций in vitro, в первую очередь за счет воздействия света. Целью работы было исследовать влияние прямого и преобразованного галогенового света с дополнительной люминесцентной оранжево-красной компонентой на развитие ранних эмбрионов мыши in vitro.

В работе использовали 2-х клеточные эмбрионы, полученные от мышей стока SHK. Облучение эмбрионов проводили светом от галогеновой лампы (35W) с или без светопреобразующего экрана, содержащего полупроводниковые наночастицы CdSe/CdS, преобразующие свет ультрафиолетового и синего диапазонов в оранжево-красный ($\lambda_{max} = 632\text{nm}$). Облучение эмбрионов проводили однократно в течение 15 минут. В качестве контроля использовали интактные эмбрионы, которые не подвергали облучению. В качестве отрицательного контроля эмбрионы облучали светом от галогеновой лампы без

светопреобразующего экрана. Оценку физиологического состояния клеток бластоцист оценивали с помощью флуоресцентного набора Apoptosis Assay Kit.

В ходе работы было установлено, что облучение эмбрионов на стадии 2 бластомеров прямым светом галогеновой лампы в течение 15 минут увеличивало число погибших эмбрионов (на 45% по сравнению с интактными), а также повышало количество аномально развитых бластоцист в 3 раза. Облучение эмбрионов в течение 15 минут преобразованным светом, наоборот, приводило к снижению погибших эмбрионов по сравнению с интактными на 20%, а количество эмбрионов, развившихся до конечной стадии доимплантационного развития – бластоцисты, было больше на 30%. Также нами было проведено исследование оценки состояния развившихся бластоцист во всех группах с помощью флуоресцентного набора, позволяющего визуализировать в них живые, мертвые, а также апоптотические клетки. Было установлено, что бластоцисты, развившиеся после облучения преобразованным светом имели наименьшее количество мертвых и апоптотических клеток, по сравнению с интактными эмбрионами и облученными прямым галогеновым светом.

Из полученных данных, можно предположить, что преобразованный свет, с максимумом излучения при 632нм оказывает благотворное влияние на развитие ранних эмбрионов мыши, способствует повышению жизнеспособности развивающихся эмбрионов, и увеличению числа нормальных эмбрионов, полностью прошедших доимплантационное развитие.

АНАЛИЗ КОНФОРМАЦИОННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ СТРУКТУРНЫХ МОТИВОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

**Руднев В.Р.¹, Панкратов А.Н.^{1,2}, Куликова Л.И.¹, Дедус Ф.Ф.¹, Тихонов Д.А.¹,
Ефимов А.В.²**

¹ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН,

²ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

volodyarv@mail.ru

С помощью созданного авторами программно-аналитического комплекса «Protein Reviser», основанного на обобщенном спектрально-аналитическом методе и разработанного для распознавания супервторичных структур в глобулярных белках с решенными 3D структурами методами рентгеноструктурного анализа и ядерно-магнитного резонанса, была сформирована выборка α - α -уголков из базы данных PDB. Выборка представляет собой перечень белков с указанием координат атомов, образующих эти структуры. Из всех распознанных структур были отобраны для дальнейшего исследования 53 α - α -уголков. Все найденные с помощью программно-аналитического комплекса структуры были визуально проверены.

Была выдвинута гипотеза об автономной устойчивости α - α -уголков, которая легла в основу исследования. Под автономной устойчивостью в данном случае понимается устойчивость пространственной структуры исследуемого структурного мотива отдельно от белковой молекулы, в которой данная структура была обнаружена.

Известно, что все структурные мотивы имеют свои, присущие только им конформационные шаблоны, основанные на распределении значений углов ϕ и ψ на карте Рамачандрана. Для описания конформации полипептидной цепи принято пользоваться определенной номенклатурой: α соответствует области правой α -спирали на карте Рамачандрана, β – области β -структуры, γ – области левой спирали и т.д.

Таким образом, конформация каждого остатка полипептидной цепи обозначается одним из символов номенклатуры. Конформацию супервторичной структуры типа α - α -уголок с короткой перетяжкой можно представить в виде шаблона.

Для проверки стабильности исследуемых уголков нами был проведен следующий вычислительный эксперимент. Согласно распределению предельных значений углов ϕ и ψ на карте Рамачандрана для всех возможных областей было проведено конформационное описание всех остатков изучаемых структур.

Далее исследовали изменение конформации структуры уголка в каждом из 5000 кадров эксперимента МД путем регистрации частоты той конформации, в которой каждый остаток оказывается в большинстве кадров. Результаты эксперимента были таковы: почти все мотивы

показали свою автономную устойчивость в том смысле, что конформация структур сохранялась вдоль траектории молекулярной динамики с некоторыми особенностями.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ, проекты № 14-07-31196, 13-04-00150, 14-07-00924, 13-01-00340.

ТОЧНЫЙ ЧАСТОТНЫЙ АНАЛИЗ СИЛЬНО ЗАШУМЛЕННЫХ ЭНЦЕФАЛОГРАММ

Рыкунов С.Д., Сычев В.В., Устинин М.Н.

ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

stanislavrykunov@gmail.com

Метод анализа многоканальных сигналов на основе точного преобразования Фурье был применен для исследования различных данных магнитной энцефалографии, а также данных электроэнцефалографии. Один и тот же эксперимент с тем же субъектом был проведен на двух различных типах магнитометров и на многоканальном электроэнцефалографе. Все экспериментальные наборы временных рядов были проанализированы с использованием информационной технологии, основанной на преобразовании Фурье временных рядов большой длительности и на подстройке сетки частот под известную частоту стимула. Это позволило построить систему базисных функций, оптимальную для данного эксперимента. Паттерны магнитного поля, построенные на гармониках частоты стимула, максимально очищены от шумов и дают возможность решать обратную задачу по реконструкции пространственной структуры источников поля. Было найдено, что при использовании предложенного метода анализа данных возможно проведение экспериментов по энцефалографии в условиях сильных внешних шумов.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ, проекты 14-07-31309, 14-07-00636, 13-07-00162, 13-07-12183, а также при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН 43П.

ФОРМИРОВАНИЕ ДНК СОДЕРЖАЩИХ ФОСФОЛИПИДНЫХ ЛИПОСОМ

Рысцов Г.К.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

gleb.8.ristsoff@gmail.com

Целью данной работы являлась разработка методики получения стабильных, количественно селективных ДНК-фосфолипидных комплексов для дальнейшего применения в регенеративной медицине.

Для реализации этого был выбран метод совместного впрыскивания фрагментированной ДНК с лецитином через тонкую иглу в перемешиваемый дистиллят.

Селекцию полученных таким образом липосом по размерам можно производить путем дополнительной фильтрации полученной суспензии через диализную пленку с заданным размером пор.

Для дальнейшего определения количественного и качественного состава ДНК-фосфолипидных комплексов использовался метод, основанный на явлении гипохромизма ДНК, определяемого при помощи наблюдения за величиной Тиндаль-Рэлеевского рассеяния светового потока, проходящего через суспензию, находящуюся в кювете.

Проведенные измерения оптической плотности при 260 нм показали практическое отсутствие свободной ДНК. Спектр был идентичен образцу с пустыми липосомами (без ДНК)

После инкубирования суспензии с детергентом SDS спектрофотометрический анализ показал наличие ДНК, экстрагированного детергентом из нуклеозид-фосфолипидного комплекса. При этом характерная спектрофотометрическая картина наблюдалась и в растворе ДНК, не подвергнутому совместному впрыскиванию с фосфолипидами, что позволяет предположить сохранение нативной структуры нуклеозидного компонента липосомального комплекса.

Для того, чтобы удостовериться в достоверности полученных результатов (т.е. что отсутствуют артефакты, связанные с рассеянием светового потока) вышеописанные серии экспериментов были продублированы с использованием спектрофотометрического оборудования для работы с мутными образцами.

Итак, при встраивании ДНК внутрь липосом возникает сильный гипохромизм нуклеотидов, обусловленный рассеянием света на каждой частице, что позволяет использовать этот параметр для количественной оценки степени связывания ДНК с липосомами.

ОБНАРУЖЕНИЕ СУТОЧНОЙ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ОЦЕНКА ЕЕ ДИНАМИКИ У ПЛАНАРИЙ *SCHMIDTEA MEDITERRANEA*

Скавуляк А.Н.¹, Ермаков А.М.², Крешенко Н.Д.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

skalexan@yandex.ru

В основе организации биосистем лежит ритмичность их функционирования. Т.к. из всех абиотических факторов стабильно во времени меняется только продолжительность светового дня, циркадианные ритмы эволюционно обуславливают механизмы адаптации регуляторных систем живых организмов к 24-часовому циклу. Частным проявлением периодической деятельности биосистем является процесс репродукции клеток, лежащий в основе морфогенетических процессов: рост и развитие, поддержание постоянства клеточного состава обновляющихся тканей. Основная роль в этом процессе принадлежит митотическому делению клеток и синтезу ДНК.

Целью данной работы являлось изучение суточной динамики пролиферативной активности, проявляющейся в виде подъемов и спадов делений стволовых клеток паренхимы планарий *Schmidtea mediterranea*. Эксперименты проводили в течение суток, животных содержали при постоянных *t* и освещении, фиксируя каждые 2 часа по 10 особей. Для выявления митотических клеток в теле планарий применяли иммуногистохимию с антителами на фосфорилированный гистон 3. Определяли число митозов на мм² площади тела животного и усредняя это значение по измерениям у 10 животных.

Абсолютный максимум митотической активности наблюдали в 16 ч. В 2 раза ниже абсолютного максимума пик митотической активности отмечен в 24 ч, а в 6 ч и 12 ч наблюдались пики в 2 раза ниже предыдущего. Абсолютный минимум отмечен в 2 ч. В 2 раза выше абсолютного минимума пик митотической активности отмечен в 8 ч, а в 14 ч и 20 ч наблюдались пики в 2 раза выше предыдущего.

Установленная полиэкстремальность кривой суточной митотической активности у планарий *Schmidtea mediterranea* может быть отражением ритмов биохимической регуляции роста и регенерации планарий. Исследование поддержано грантами РФФИ № 14-04-01517-а и № 15-04-05948-а.

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, ПОДВЕРЖЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ *ALCL3 IN VITRO*

Скоробогатова А.С.¹, Козленкова О.А.², Лукьяненко Л.М.¹

¹ГНУ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, ²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

olga.kozlenkova@gmail.com

Одной из причин микроэлементного дисбаланса организма является накопление клетками токсичных и потенциально токсичных элементов. К потенциально токсичным элементам относится и алюминий, попадающий в организм человека с водой, воздухом и пищей. Его избыток в организме может представлять серьезную опасность для здоровья человека. Токсическое воздействие алюминия обусловлено образованием соединений с белками, антагонизмом по отношению к некоторым эссенциальными элементами (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} и др.), а также влиянием на многие внутриклеточные процессы.

Цель нашей работы – изучение влияния накопления ионов алюминия в эритроцитах человека на дисбаланс макро- и микроэлементов в клетках.

Эритроциты (10 % гематокрит) инкубировали в забуференном растворе NaCl, содержащем $AlCl_3$ (10 – 100 мкМ), в течение 3 ч при 37°C. Анализ элементного состава эритроцитов выполнен методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на приборе ICPE-9000 (Shimadzu, Япония).

Показано, что после трехчасовой инкубации с субгемолитическими концентрациями (10-100 мкМ) хлорида алюминия эритроциты накапливают алюминий дозозависимым образом. Воздействие на эритроциты 50-100 мкМ $AlCl_3$ в течение 3 ч приводит к статистически достоверному ($p \leq 0,01$) увеличению содержания Al^{3+} в клетках в 6-8 раз по сравнению с контролем ($2,31 \pm 0,70$ мг/л в контрольном образце; $20,04 \pm 7,44$ мг/л при концентрации $AlCl_3$ 100 мкМ). Нами также установлено, что накопление Al^{3+} в клетках приводит к достоверному уменьшению ($p \leq 0,05$) содержания в них Li^+ ($6,03 \pm 0,77$ мг/л в контрольном образце; $5,12 \pm 0,79$ мг/л при концентрации $AlCl_3$ 100 мкМ), B^{2+} ($1,09 \pm 0,34$ мг/л в контрольном образце; $0,69 \pm 0,28$ мг/л при концентрации $AlCl_3$ 100 мкМ) и увеличению ($p \leq 0,05$) содержания Zn^{2+} ($3,98 \pm 1,93$ мг/л в контрольном образце; $8,86 \pm 4,75$ мг/л при концентрации $AlCl_3$ 100 мкМ). Также наблюдалась тенденция к снижению концентрации таких макроэлементов как кальций, калий и железо и к увеличению концентрации натрия. Колебания концентраций ионов магния и фосфора находятся в одном диапазоне и не зависели от накопления ионов алюминия в клетках.

Полученные данные позволяют предположить, что дисбаланс микро- и макроэлементного состава эритроцитов, вызванный накоплением высоких концентраций Al^{3+} , может служить одним из механизмов развития токсического действия алюминия.

ФОТОХРОМНЫЕ СВЕРХБЫСТРЫЕ РЕАКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО И ЗРИТЕЛЬНОГО РОДОПСИНОВ

**Смитиенко О.А.¹, Шелаев И.В.², Гостев Ф.Е.², Фельдман Т.Б.^{1,3}, Некрасова О.В.⁴,
Долгих Д.А.^{3,4}, Надточенко В.А.^{2,3,5}, Кирпичников М.П.^{3,4}, Островский М.А.^{1,3}**

¹ИБХФ РАН, ²ИХФ РАН, ³ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, ⁴ИБХ РАН, Москва;
⁵ИПХФ РАН, Московская обл., Черноголовка, Россия

djolia@gmail.com

Бактериальный и зрительный родопсины являются типичными представителями ретиналь-содержащих белков. Эти светочувствительные трансмембранные белки способны преобразовывать световую энергию для осуществления биологических функций живых организмов. Бактериальный родопсин (бактериородопсин, БР) возник в ходе эволюции 3,5 млрд. лет назад. Он осуществляет фотоэнергетическую функцию – направленный транспорт ионов через клеточную мембрану. Зрительный родопсин (Р) возник значительно позже 1 млрд. лет назад. Он обеспечивает сенсорную функцию. Поглощение кванта света хромофорной группой этих белков инициирует сверхбыструю фотохимическую реакцию: полностью-транс ретиналь → 13-цис ретиналь в БР и 11-цис ретиналь → полностью-транс ретиналь в Р, протекающую за время 200-500 фс. Далее следуют темновые конформационные перестройки всего белка, протекающие с образованием промежуточных продуктов. Первый устойчивый продукт образуется за 3-5 пс после поглощения кванта света – продукт К в случае БР и батородопсин (Бато) в случае Р. Фотохимическая реакция родопсинов фотохромна, то есть, поглощение второго кванта света продуктом прямой реакции инициирует переход в исходное состояние. При этом будут протекать обратные фотореакции: 13-цис ретиналь → полностью-транс ретиналь в БР и полностью-транс ретиналь → 11-цис ретиналь в Р.

В работе было проведено сравнение динамики прямой и обратной фотохимических реакций БР и Р методом «возбуждение-возбуждение-зондирование» фемтосекундной абсорбционной лазерной спектроскопии с разрешением 20-25 фс. Применение двух возбуждающих импульсов, следующих с задержкой 5 пс, позволило инициировать прямую и обратную фотореакции БР и Р. Сравнительный анализ спектров и кинетических кривых дифференциального поглощения исследуемых белков выявил различный характер протекания прямых фотореакций. Также было показано, что обратные фотореакции протекают с разной эффективностью – квантовый выход фотоперехода К → БР (0.89) почти в 6 раз больше, чем у

фотоперехода Бато→Р (0.15). Полученные результаты можно объяснить исходя из различной динамики фотопереходов цис-изомеров ретиналя в полностью-транс и обратно, а также различным белковым окружением хромофоров. Можно предположить, что в ходе эволюции ретиналь-содержащих белков внутримолекулярный механизм хромофор-белковых взаимодействий у зрительного родопсина становится более совершенным и специфичным, что выражается в возрастании эффективности прямой и уменьшении вероятности обратной фотореакции.

НЕЛИНЕЙНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕХАНИЗМОВ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ ВАЗОДИЛАТАЦИИ

Стюхина Е.С., Неганова А.Ю., Постнов Д.Э.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия

ells03@yandex.ru

Интенсивное изучение явления распространяющейся вазодилатации началось в 70-х годах прошлого века. В настоящее время доказано, что локальная электрическая и химическая стимуляция артериального сосуда может вызывать генерацию вазодилатирующего сигнала в клетках эндотелия (КЭ) сосудистой стенки, также, как и то, что этот сигнал может передаваться на значительные расстояния (до нескольких миллиметров). Такая реакция кровеносного сосуда лежит в основе одного из важных регуляторных механизмов – функциональной гиперемии, которая выражается в "подстройке" кровоснабжения отдельного участка биоткани в ответ на изменение его метаболизма, (например, в ответ на повышение активности мышечных волокон). В одних случаях индуцированное изменение диаметра сосуда характеризуется заметным затуханием сигнала с увеличением пройденного расстояния, тогда как в других случаях наблюдалось незатухающее (с постоянной степенью вазодилатации) распространение сигнала, что предполагает наличие регенеративного процесса.

Несмотря на значительное число работ по ионным механизмам КЭ, предположительно вовлеченным в формирование распространяющейся вазодилатации, ее конкретные "сценарии" невыяснены и продолжают интенсивно обсуждаться. Одна из новых гипотез выдвинута в работах Figuera с соавторами и базируется на новых экспериментальных данных о наличии в мембране КЭ потенциал-зависимых натриевых каналов, которые, предположительно, и обеспечивают регенеративное проведение сигнала по типу возбудимой динамики нейронов. На данный момент такая гипотеза в целом не принята научным сообществом, так как возбудимая нейроподобная динамика КЭ не подтверждается экспериментально.

Наша работа посвящена исследованию возможных динамических механизмов регенеративной трансляции импульса КЭ. Методами математического моделирования мы тестируем работоспособность предложенного Figuera с соавторами механизма. Главным результатом является обоснованная расчетами гипотеза, согласно которой распространение вазодилатирующего сигнала постоянной амплитуды не обязательно требует наличия выраженной возбудимой динамики КЭ, но может быть опосредовано режимом бистабильности КЭ. Предложенная нами гипотеза косвенно подкрепляется данными публикаций по электрическим характеристикам цельных клеток эндотелия.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ, НИР 3.1340.2014/К конкурсной части госзадания.

ВЛИЯНИЕ ДВОЙНОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО СЛОЯ НА ТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАННЫХ НАНОТРУБОК

Ушаков А.М.^{1,2}, Галимзянов Т.Р.³, Кузьмин П.И.¹, Башкиров П.В.^{1,4}

¹ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва; ²ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; ³ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», ⁴ФГБУН Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

howshad@gmail.com

В последние годы исследователи проявляют повышенный интерес к гидродинамике в структурах с характерным размером порядка нанометра - нанофлюидным системам. В таких системах обнаруживаются эффекты, которые могут быть интересны как с теоретической точки зрения, так и для дальнейшего практического применения. Например, в последнее время активно ведутся исследования транспорта ионов внутри нанопор или нанотрубок (НТ), чья внутренняя поверхность обладает ненулевой плотностью заряда. Ионы двойного слоя создают поверхностную проводимость канала НТ, вклад которой в общую проводимость зависит от радиуса канала, величины заряда и ионной силы раствора. В качестве параметра, характеризующего величину эффекта, можно выбрать отношение длины Дебая к радиусу люмена НТ. Очевидно, что с понижением ионной силы раствора величина длины Дебая будет расти, как и будет расти относительный вклад поверхностных ионов в общую проводимость. В данной работе предсказываемая теоретическая зависимость общей проводимости такой НТ нашла подтверждение на практике.

В качестве наноканала использовались липидные НТ вытягиваемые из бислоидной липидной мембраны (БЛМ), содержащей 20% ДОФС – липид с отрицательным зарядом. Характерный радиус НТ составляет несколько нм. В ходе эксперимента регистрировалась зависимость проводимости НТ от ее длины, из аппроксимации которой вычислялся эффективный радиус НТ. Увеличение эффективного радиуса НТ по мере уменьшения ионной силы раствора указывает на рост относительного вклада поверхностной проводимости ионов двойного слоя в общую проводимость НТ. Так, например, уменьшение ионной силы раствора с 500 мМ до 50 мМ приводит к увеличению величины эффективного радиуса в 1,5 – 2 раза. Такая зависимость проводимости от ионной силы отсутствовала у НТ содержащей только электронейтральные липиды. Впоследствии было показано, что изменение эффективного радиуса, связанное с поверхностной проводимостью хорошо укладывается в теоретическую зависимость. Стоит также отметить, что поверхностная проводимость создается ионами одного знака (противоионами поверхностного заряда), что влечет преимущество потока одних ионов над другими, то есть ионную селективность такой системы. Таким образом, можно сделать вывод, что наличие поверхностного заряда НТ является важным фактором, оказывающим влияние на транспортные характеристики НТ. Липидная НТ является удобным объектом для экспериментального исследования роли двойного электрического слоя в явлениях переноса вещества в наноканалах. Радиус таких НТ позволяет регистрировать заметный вклад поверхностного слоя уже при 50 мМ.

НОВЫЕ БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПАРАМЕТРОВ ПОРЯДКА В ПСИХОФИЗИОЛОГИИ

Филатов М.А., Колосова А.И., Валиева Е.В.

БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», Сургут, Россия

a-kolosova-2015@mail.ru

В последние годы разработка и внедрение биофизических методов и моделей в психофизиологические исследования динамично развивались и давали ощутимые результаты, как для психофизиологии, так и для биофизики. В настоящее время активно продолжается разработка и внедрение новых диагностических комплексов с использованием современных

достижений биофизики сложных систем, методов теории хаоса-самоорганизации (ТХС), путем создания новых подходов и новых математических моделей. Идентификация параметров порядка – основа системного синтеза, одна из главных проблем естествознания вообще. Один из ответов на этот фундаментальный вопрос естествознания мы предлагаем в рамках решения задачи бинарной классификации с помощью нейроэмулятора (нейро-ЭВМ или НЭВМ), как некоторой модели принятия правильного решения мозгом человека, его нейронными сетями. При этом для нейроэмулятора создавались определенные условия в виде многократного представления на вход НЭВМ двух одинаковых обучающих выборок, которые нейросеть устойчиво разделяла на два разных объекта, т.е. выполняла процедуры бинарной классификации. Однако, сама нейросеть каждый раз (в исходном состоянии, до начала деятельности) получала хаотичный набор весов признаков x_i (перед настройкой) для конкретного вектора состояний $x=x(t)$ исходной (исследуемой) биологической системы. Всего было обследовано более 20-ти тысяч человек в виде наблюдений и экспериментов в рамках задачи бинарной классификации, из них более 8-ми тысяч по параметрам психофизиологических функций. Результаты во всех случаях были получены однотипные в отношении общих закономерностей. Определены закономерности в работе НЭВМ при идентификации параметров порядка. В частности, в рамках применения нейро-ЭВМ были поставлены задачи по идентификации различий в работе психофизиологических функций в разных экологических условиях групп детей (мальчики и девочки) до отъезда в санаторий «Юный Нефтяник» и после приезда в г. Сургут. При увеличении числа повторов итераций p , т.е. повторов решения задачи бинарной классификации в рамках исходного задания хаотичного набора весов признаков x_i , и при переходе к $102 < p < 103$, картина начинает существенно изменяться. Веса w_{ij} признаков x_i продолжают демонстрировать хаотические вариации, но эти хаотические изменения выходных значений весов x_i (после разделения двух групп) проявляются в пределах некоторого квазиаттрактора для всех компонент вектора x .

КИНЕТИКА ТЕПЛОВОЙ ДЕНАТУРАЦИИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ОККЛЮЗИИ СОННЫХ АРТЕРИЙ МОЗГА КРЫС

Хизриева С.И., Джафарова А.М., Халилов Р.А.

ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

albina19764@mail.ru

Ишемия представляет собой ухудшение или полное прекращение всех трех функций локального кровоснабжения: доставки кислорода в ткань, доставки пластических веществ – субстратов окисления и удаления продуктов метаболизма. Одной из первых реакций ткани мозга на снижение мозгового кровотока являются активизация анаэробного окисления и развитие лактат-ацидоза. Обнаружено, что при ишемии активность ЛДГ – ключевого фермента анаэробного гликолиза существенно повышается, однако молекулярные механизмы этого явления еще не известны. Для выяснения механизмов функционирования ферментов широко используются количественные характеристики их термостабильности. В связи с этим нами предпринято исследование кинетики тепловой денатурации ЛДГ мозга крыс при окклюзии сонных артерий (в течение 1 часа).

Исследование показало, что кинетика денатурации ЛДГ мозга контрольных крыс нелинейна и содержит две стадии: быструю и медленную. Константы скорости денатурации быстрой (K_1) и медленной (K_2) фазы зависят от температуры: чем выше температура денатурации, тем выше значение K_1 и K_2 . При этом энергия активации (E_a) быстрой фазы существенно ниже таковой медленной на 56,3%. Таким образом, медленная стадия больше зависит от температуры, чем быстрая, поэтому скорость денатурации медленной стадии меньше. При фокальной ишемии скорость тепловой денатурации ЛДГ мозга крыс увеличивается. При этом константа скорости денатурации для быстрой фазы при температуре 42°C повышается на 20,1%, при 44°C на 40,4 %, а при 46 °C на 54,0 % Эффективные энергии активации денатурации при ишемии этом снижаются для быстрой фазы на 42,4 %, а для медленной фазы на 45,6 % относительно контроля. Таким образом, анализ наших данных показал, что ЛДГ мозга крыс при ишемии характеризуется меньшей термостабильностью по сравнению с контрольными крысами. Как известно, ишемия – это состояние, которое

сопровождается активацией анаэробного окисления глюкозы, что впоследствии приводит к накоплению лактата в мозге. Чем же могут быть обусловлены нарушения термостабильности ЛДГ при ишемии? Нестабильный фермент может обладать большей конформационной подвижностью, то есть быть более лабильным и осуществлять более эффективный катализ. Возможно, что такое повышение лабильности ЛДГ является адаптивной реакцией мозга, направленной на компенсацию энергодефицита в нем при окклюзии сонных артерий.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА И НЕКОТОРЫХ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКССУДАТА МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ РОСТА АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА, ПОДВЕРГНУТОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

Шабанов Д.И., Лысенко Ю.А., Артюхов В.Г.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

am7d@mail.ru

В качестве одного из способов элиминации злокачественных новообразований применяется метод фотодинамической терапии (ФДТ), предполагающий использование фотосенсибилизатора, и, как правило, видимого света. Помимо непосредственного повреждения опухолевых клеток генерируемыми при ФДТ цитотоксическими агентами эффекты резорбции опухолей связывают и с активацией иммунного ответа опухоленосителя. Ранее нами продемонстрированы изменения различных параметров системы крови (в том числе популяционного состава и некоторых структурно-функциональных характеристик иммуноцитов), сопровождающие процесс роста асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) в перитонеальной полости мышей NMRI после инокуляции клеток опухоли, облученных красным светом в присутствии метиленового голубого (МГ). Поэтому представляло интерес исследование процессов накопления и изменения состояния различных типов клеток иммунной системы непосредственно в зоне растущей опухоли.

В экспериментах использовали нативную суспензию клеток АКЭ, а также образцы, инкубированные с МГ в темновых условиях и облученные в смеси с красителем. Далее в процессе роста опухоли определяли объем асцитной жидкости, долю клеток различных типов и их концентрацию в экссудате. Особенности морфологии клеток оценивали с использованием светового и растрового электронного микроскопов. Также определяли параметры стимулированной латексом люминолзависимой хемилюминесценции фагоцитов. Нами выявлено, что в процессе опухолевого роста отмечается сходный характер изменений концентрации клеток перитонеального экссудата у мышей с нативной суспензией АКЭ и инокулятом, инкубированным с МГ в темновых условиях: наблюдалось увеличение объема асцитной жидкости и концентрации клеток в ней с превалированием опухолевых начиная с 7 сут, а также повышение содержания нейтрофилов и макрофагов. В случае мышей с имплантированной фотомодифицированной суспензией АКЭ общая концентрация клеток в течение периода наблюдения (16 сут) статистически значимо не изменялась, причем доля клеток АКЭ не превышала 45 %, а основной популяцией перитонеального экссудата являлись лимфоциты. Также в процессе опухолевого роста регистрировалось увеличение значений максимальной интенсивности хемилюминесценции фагоцитирующих клеток и уменьшение времени достижения максимума свечения. Таким образом, показано, что облучение инокулята перед имплантацией способствует не только частичной гибели и, как следствие, торможению пролиферации клеток АКЭ в брюшной полости мышей, но и индуцирует изменения популяционного состава клеток перитонеального экссудата с фотомодифицированной опухолевой массой.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТОКСИЧНОСТИ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ, СОЛЕЙ СЕРЕБРА(I) И МЕДИ(II) В ОТНОШЕНИИ ИНФУЗОРИЙ *PARAMECIUM CAUDATUM*

Шевцова Ю.А., Свиридова И.А., Дычкина Е.В.

ФГАОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

milliner2013@yandex.ru

Серебряные наночастицы широко используются в качестве антибактериальных агентов и модификаторов поверхностей различных устройств, однако вопрос об их экологической токсичности остается нерешенным. Наибольшее значение для установления баланса в окружающей среде имеют гидробионты, к которым относятся одноклеточные эукариотические организмы *Paramecium caudatum*. Они распространены в гидросфере и имеют ряд преимуществ в качестве тест-организмов для оценки токсического воздействия загрязнителей окружающей среды. На данный момент токсичность наночастиц серебра против парамеций слабо изучена. В единственной доступной работе (Kvitek et al., 2009) было показано, что модификация наночастиц серебра синтетическими полимерами существенно влияет на их токсичность.

Целью исследования являлось сравнение токсичности серебряных наночастиц, стабилизированных различными химическими веществами, с эталонными токсикантами (Cu^{2+} , Ag^+) по отношению к *P. caudatum*.

В ходе эксперимента было показано, что растворы солей Ag^+ и Cu^{2+} проявляли токсическое действие и вызывали понижение количества клеток в культуре при концентрации 0,2-2 мкМ. Растворы, содержащие более крупные наночастицы серебра (гидродинамический радиус 60,5-136,7 нм), восстановленные экстрактом зеленого чая, и более мелкиенаночастицы (гидродинамический радиус 66,10-73,60 нм), стабилизированные цитратом натрия и галловой кислотой, при концентрации 0,8 мкМ проявляли слабotoксические и нетоксические свойства. На токсичность наночастиц серебра влияет размер и удельная поверхность, которые зависят от состава реагентов, использующихся в качестве восстановителей и концентрации действующих веществ.

На основе полученных данных можно сделать следующие выводы:

Серебряные наночастицы нетоксичны либо слабotoксичны по сравнению с солями эталонных токсикантов Cu^{2+} и Ag^+ .

Токсичность наночастиц зависит от способов их получения, которые, в свою очередь, влияют на размер, удельную поверхность наночастиц.

Серебряные наночастицы экологически более безопасны, чем серебро в ионной форме.

ДИГИДРОКВЕРЦЕТИН УМЕНЬШАЕТ ЧАСТОТУ ОБРАЗОВАНИЯ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ПОЛИХРОМАТОФИЛЬНЫХ ЭРИТРОЦИТОВ С МИКРОЯДРАМИ И ПРОЯВЛЯЕТ РАДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА

**Шелковская О.В.^{1,2}, Карп О.В.¹, Иванов В.Е.¹, Черников А.В.¹, Гудков С.В.^{1,2},
Брусков В.И.¹**

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ²ФГБОУ ВПО
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

При воздействии ионизирующего излучения в организме человека и животных возникает окислительный стресс. Он, по большей части, обусловлен сверхпродукцией активных форм кислорода при радиоллизе воды. Окислительный стресс сопровождается опасными для жизнедеятельности клеток процессами, такими как перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков и нуклеиновых кислот. Наиболее опасными являются окислительные повреждения ДНК, установлена связь между этими повреждениями и такими процессами, как мутагенез, канцерогенез, старение и ряд связанных с ним болезней пожилого возраста. Также необратимые повреждения молекул ДНК являются одной из основных причин пострадиационной гибели животных. Ранее показано, что дигидрокверцетин (ДГК) в системах *in vitro* проявляет существенные антиоксидантные свойства, в связи с этим мы предположили,

что данное соединение будет в существенной мере нейтрализовать негативные последствия окислительного стресса, вызванного ионизирующим излучением. Цель настоящей работы заключалась в исследовании генопротекторных и радиозащитных свойств ДГК. Показано, что при введении ДГК животным в концентрации 30; 150 и 300 мг/кг количество полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) после облучения уменьшается на 5%, 20% и 35%, соответственно. Следует заметить, что между эффектами ДГК вводимого в концентрациях 30 мг/кг не наблюдается статистических отличий. Таким образом, при введении ДГК в концентрациях 150 и 300 мкг/кг в красном костном мозге мышей образуется меньшее количество радиационно-индуцированных ПХЭ с МЯ. Защитный эффект ДГК увеличивается при увеличении концентрации. Исследовано влияние ДГК на выживаемость мышей подвергнутых действию ионизирующей радиации в дозе 7Гр. Показано, что при введении ДГК в концентрации 150; 300 мг/кг живого веса за 15 мин до тотального рентгеновского облучения в летальной дозе 7 Гр, в течение 30 суток выжило 10%, 40% животных при 100 % гибели облученных животных в контрольной группе и группе которой был введен ДГК концентрации 30 мг/кг. Таким образом, введение дигидрохверцетина уменьшает частоту образования радиационно-индуцированных полихроматофильных эритроцитов с микроядрами и проявляет радиопротекторные свойства. Работа частично поддержана грантами РФФИ № 13-04-00730-а, № 14-44-03562-р_центр_a.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ УГЛЕРОДА С ЭНЕРГИЕЙ 200 МэВ/НУКЛОН НА МЫШЕЙ И ИХ ПОТОМКОВ В ДВУХ ГЕНЕРАЦИЯХ

Шемяков А.Е., Заичкина С.И., Смирнова Е.Н., Розанова О.М., Романченко С.П., Дюкина А.Р., Сорокина С.С., Вахрушева О.А.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

alshemyakov@yandex.ru

В связи с активным освоением космоса и поиском новых более эффективных источников для радиотерапии опухолей особый интерес в последнее время вызывают исследования действия малых доз излучений, которые характеризуются высокой линейной передачей энергии.

Целью настоящей работы было изучение генетического аппарата в клетках костного мозга мышей, облученных ускоренными ионами углерода с энергией 200 МэВ/нуклон до пика Брэгга, и их потомков в двух поколениях с помощью теста «адаптивный ответ».

Облучение ШНК мышей ионами углерода осуществлялось на ускорителе «Нуклотрон» (г. Дубна). Во время облучения мышей помещали в специально разработанные контейнеры, позволяющие провести облучение ионами углерода до пика Брэгга, который заключается в максимальном выделении энергии в конце пробега при остановке иона в опухоли. Данное положение было выбрано специально в качестве модели облучения здоровых тканей при радиотерапии. Облучение животных рентгеновскими лучами осуществлялось на установке РУТ (1 Гр/мин). В экспериментах по изучению радиационного адаптивного ответа (АО) животных облучали ускоренными ионами углерода в адаптирующей дозе 0.1 Гр и через 24 ч мышей облучали выявляющей дозой 1.5 Гр рентгеновского излучения. Для получения F₁ поколения спаривание облученных самцов с необлученными самками проводили через 15 дней. Для F₂ генерации - самцов F₁ поколения спаривали с необлученными самками. Уровень цитогенетических повреждений оценивали с помощью подсчёта полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) в клетках костного мозга.

Было показано, что у мышей, облученных ускоренными ионами углерода и рентгеновским излучением по схеме АО наблюдается значительное уменьшение ПХЭ с МЯ по сравнению с мышами, получившими только дозу 1.5 Гр, т.е. индуцируется АО. При этом уровень цитогенетических повреждений у облученных животных в дозе 0.1 Гр не отличался от такового у необлученных.

У мышей как первого, так и второго поколения самцов, облученных ускоренными ионами углерода и рентгеновскими лучами, уровни спонтанного цитогенетического повреждения и

радиочувствительности были одинаковы по сравнению с потомками от необлученных самцов. В то же время, при облучении их по схеме радиационного АО, не наблюдалось уменьшения величины цитогенетического повреждения, т.е. в отличие от их родителей АО у них отсутствовал, что говорит о возможности трансгенерационной передачи повреждений. Т.о., исследования свойств потомков мышей с помощью теста «адаптивный ответ» могут служить дополнительным чувствительным тестом для выявления и оценки повреждений от различных экологических факторов.

МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Шипунова В.О.¹, Никитин М.П.^{1,2,3}, Никитин П.И.², Деев С.М.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ²ФГБУН Институт общей физики РАН, Москва;

³ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

viktoriya.shipunova@phystech.edu

В последнее время значительное внимание исследователей уделяется изучению взаимодействия наночастиц различной природы с живыми клетками. Ряд интересных свойств наночастиц делает их весьма привлекательными объектами для разработки новых подходов к терапии и диагностике различного рода заболеваний, а также для других биомедицинских применений с использованием “умных материалов”.

Среди большого разнообразия синтезируемых наночастиц отдельный интерес представляют наночастицы, обладающие магнитными свойствами. В силу своей уникальной физической природы магнитные наночастицы (МНЧ) являются многофункциональными объектами и, наряду с магнетизмом, особенно важным их свойством является возможность специфической и неспецифической модификации их поверхности различными биомолекулами, обеспечивающими биологическую активность частиц. Под специфической модификацией МНЧ подразумевается оснащение их поверхности направляющими агентами, избирательно взаимодействующими только с определенным типом клеток, а также токсичными и/или визуализирующими модулями. Такие “нацеленные” МНЧ используются для магнитной сепарации, методов иммуноанализа, а могут выступать как потенциальные тераностические агенты, а детекция внешнего магнитного сигнала позволяет использовать МНЧ для диагностических целей. В случае неспецифической модификации поверхность МНЧ покрывается полимерами и различными амфифильными молекулами. Такие покрытия служат как основой для присоединения направляющих молекул, так и сами могут непосредственно взаимодействовать с клеточной поверхностью, например, за счет электростатического взаимодействия.

В представленной работе описываются получение и характеристика МНЧ с полиэтилениминовой оболочкой, которые способны с высокой степенью эффективности связываться с клеточной поверхностью, не повреждая клетку и сохраняя ее жизнеспособность. Также описывается получение МНЧ для селективного мечения клеток эукариот, способных специфично и контролируемым образом связываться с поверхностью клеток. С целью полноценного исследования взаимодействия полученных конструкций с клетками разработан и реализован принципиально новый метод количественной детекции связывания наночастиц с клетками на основе детекции нелинейных магнитных материалов на комбинаторных частотах.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №14-04-32325мол_a и стипендии президента РФ.

ВИРТУАЛЬНЫЙ ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ α,ω -ГЕКСАДЕКАНДИОЛОВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТОЧНОМ АЛЬБУМИНЕ

Шербаков К.А., Дубинин М.В., Самарцев В.Н.

ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

kirill.soff@gmail.com

Известно, что при синдроме Рея, характеризующемся острой энцефалопатией и жировой инфильтрацией печени в сыворотке крови и тканевой жидкости многократно повышается уровень свободных жирных кислот, до 55% от их общего количества составляют α,ω -диоловые кислоты. Известна способность сывороточного альбумина связывать жирные кислоты, в том числе и α,ω -гексадекандиоловую (ГДК), однако, для последней конкретные сайты связывания не описаны. В связи с этим представляет интерес поиск сайтов связывания ГДК в альбумине. Для выполнения этой задачи применялся программный пакет Vina Autodock. В расчетах использовался файл 1HK4.pdb. На данном этапе работы было найдено три наиболее аффинных сайта.

Сайт I образован преимущественно гидрофобными остатками, формирующими липофильную область. В формировании сайта связывания ГДК участвует и основной остаток Arg10 который, однако, не образует водородных связей с карбоксильными группами ГДК. Вероятно, его роль связана с облегчением проникновения молекулы кислоты в гидрофобную область путём электростатических взаимодействий с одной из карбоксильных групп. Этот сайт находится в непосредственной близости к сайту связывания II для одноосновных жирных кислот, однако общих остатков с ним не имеет.

Второй сайт связывания образован как гидрофильными, так и гидрофобными остатками. Здесь наблюдается большое число основных остатков, однако, лишь Arg117 образует водородную связь с одной из карбоксильных групп ГДК, также он принадлежит сайту связывания I одноосновных жирных кислот, где формирует с ними водородную связь. В сайте II ГДК удерживается и посредством гидрофобных взаимодействий. Большое количество заряженных остатков в данном сайте может быть объяснено тем, что с появлением второй карбоксильной группы возрастает и гидрофильность ГДК в сравнении с пальмитиновой кислотой.

Сайт III характеризуется отсутствием водородных связей между боковыми группами аминокислот и карбоксильными группами ГДК. Велико число гидрофобных остатков, чьи боковые цепи обращены к углеводородной цепи ГДК, что подразумевает важную роль гидрофобных взаимодействий в данном сайте. Предполагается и некоторая роль Lys351 в фиксации ГДК внутри сайта посредством электростатического взаимодействия. Данный сайт локализован в непосредственной близости к сайту связывания VI одноосновных жирных кислот и имеет с ним общие остатки.

В дальнейшем предполагается поиск дополнительных сайтов связывания ГДК.
Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-04-00688-а).

НЕЙРОСЕТЕВОЙ МЕТОД В РЕШЕНИИ ЗАДАЧИ БИНАРНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ПАРАМЕТРОВ КАРДИОИНТЕРВАЛОВ ШКОЛЬНИКОВ ПРИ СМЕНЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОЯСОВ

Эльман К.А.¹, Горбунов Д.В.¹, Прасолова А.А.¹, Трусов М.В.²

¹БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», Сургут; ²Ляминская СОШ, Сургутский район, Россия

elmanka@bk.ru

При изучении сложных систем, в первую очередь биомедицинских, очень важно решить две задачи: во-первых, установить наличие различий между начальным состоянием системы и конечным; во-вторых, выделить наиболее существенные признаки, в которых эти различия выражаются. Классическое решение задачи бинарной классификации с помощью искусственных нейронных сетей предполагает выполнение одной единственной итерации обучения. Однако, последующие итерации обучения дают различные результаты. В связи с

этим нами был применен подход, основанный на множественных итерациях обучения нейронной сети с последующим усреднением весовых коэффициентов.

Нами была обследована группа из 300 детей школьного возраста в условиях широтных перемещений, которая в конце марта была вывезена из г. Сургута на юг в район г. Туапсе. С помощью пульсоксиметра производилась регистрация кардиоинтервалов с последующим автоматизированным вычислением параметров variability сердечного ритма. Измерения производились в 4 состояниях: перед отъездом из Сургута; по приезду в г. Туапсе; после отдыха в санатории и по возвращении в г. Сургут. Полученные данные обрабатывались с помощью нейросетевого эмулятора.

С помощью нейронных сетей была решена задача бинарной классификации по всем параметрам сравнений. Однако решение задачи бинарной классификации нейроэмулятор выполняет стохастически. В связи с этим нами был предложен метод множественных итераций, с усреднением получаемых в результате обучения нейронной сети весовых коэффициентов.

Сходимость весов связана с числом итераций определенной зависимостью. Таким образом, если $k=1000$, то уже две значащие цифры после запятой в весах будут оставаться неизменными. Такая погрешность вполне допустима для биомедицинских исследований, т.к. не превышает 1-5%.

Из расчетов следует, что для $k \geq 100$ мы имеем вариации во втором порядке после запятой. А при $k \geq 1000$ мы имеем уже две устойчивые значащие цифры. Увеличивая число итераций, мы можем получить ранжированные веса признаков с любой степенью точности.

Выводы о значимости диагностических признаков при числе итераций обучения нейросети $k < 100$ ошибочны уже в первом значении после запятой. Любое разовое решение задачи бинарной классификации в биомедицинских исследованиях уникально и не представляет истинного значения веса. Таким образом, при идентификации параметров порядка необходимо использовать нейроэмуляторы в режиме бинарной классификации, задавая число итераций обучения нейронной сети $k \geq 1000$.

СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»

DEVELOPMENT OF NOVEL LENTIVIRAL CONSTRUCTS TO BE USED FOR COLOCALIZATION STUDIES

Muyangwa M., Garanina E.E., Rizvanov A.A., Khaibullina S.F.

FSAEI HE Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russian Federation

musalwam@yahoo.co.uk

Hantaviruses are carried and transmitted by rodents and insectivores. They have a negative sense single stranded RNA genome in 3 segments designated S (small), M (medium) and L (large), which encode nucleocapsid (N) protein, envelope glycoproteins (G1, G2) and an RNA dependant RNA polymerase, respectively. Hantaviruses such as hantaan (HTNV) and Dobrava-Belgrade virus (DOBV) cause hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) while others such as Andes (ANDV) and Sin Nombre (SNV) cause Hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS). The mortality rate for HFRS and HCPS is believed to exceed 10% and 60% respectively. Other hantaviruses such as Prospect Hill virus (PHV) and Topographov (TOPV) are apathogenic with the exception of Puumala which causes Nephropathiaepidemica (NE). It is well known that viruses utilize intracellular traffic pathways for viral assembly and budding. One of the mechanisms used is in association with endosomes. Endosomes are membrane-delimited intracellular transport carriers.

In this study we develop 5 recombinant lentiviruses (LV), encoding the s segment of PUU, HTNV, PHV, ANDV and SNV hantaviruses to be used for further colocalization studies of the developed constructs with endosomes *in vitro*. Recombinant LV was developed by co-transfecting HEK 293 FT cells with 3 plasmids: ps PAX2 (packaging plasmid), pCMV-VSV-G (envelope plasmid) and lentiviral plasmid encoding for the s segment of the specific hantavirus cloned in pLX 303 vector.

Lentiviruses were harvested 48, 72 and 96 hours post transfection. To visualize the specific hantaviral nucleocapsid protein, a polyclonal rabbit anti-ANDV N antibody exerting cross reactivity with the produced viruses and a secondary fluorescent antibody (goat anti rabbit AlexaFlour 488, Invitrogen) were used. With the help of an AxioObserver.Z1 (Carl Zeiss) fluorescent microscope we could verify the produced lentiviral constructs. After confirmation of the produced lentiviral constructs by immunocytochemistry, flow cytometry was conducted to determine lentiviral titer for each specific produced construct.

The results of our research show that we were able to develop high titer lentiviral constructs which we plan to use for further research in determining the colocalization of the produced lentiviral constructs with endosomes.

PROTEIN MIXTURES AS MODEL FOR ANIMAL BIOLOGICAL FLUIDS SURFACE TENSION ANALYSIS

Zarudnaya E.N., Zaitsev S.Yu.

FSEI HPE Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation

e-n-zarudnaya@mail.ru

Animal biological fluids (blood, lymph, milk etc.) represent a dynamic system in balance with surrounding tissues.

The goal of this research has been to study the influence of the protein concentration on the surface tension (ST) of the solutions. The ST measurements have been carried out on the BPA-1P tensiometer (Sinterface Technologies, Germany). We have prepared aqueous solutions of bovine serum albumin (BSA) in following concentrations: 1 g/l; 25...95 g/l and defined ST in different surface lifetime periods: **st₀** (where $t \rightarrow 0$ s), **st_{0.02}** (where $t = 0,02$ s), **st₁** (where $t = 1$ s), **st_∞** (where $t \rightarrow \infty$ s).

The research showed that the ST values in the area **st₀** and **st_{0.02}** for all the protein concentrations fluctuate within 71.3 – 73.7 mN/m, i.e. are close to water ST. With surface lifetime increase they firmly lower from 72.9 mN/m to 63.2 mN/m (by 14% at the average). The solution BSA increase from 1 g/l to values corresponding to animal blood serum albumin standard (25 g/l, 35 g/l and

45 g/l), leads to confirmed **st1** lowering from 72.2 mN/m to 70.2...68.3 mN/m (by 4.2% at the average) and to **st ∞** lowering from 71.2 mN/m to 64.7...62.6 mN/m (by 11% at the average). For BSA solutions with 35-45 g/l the **st0.02**, **st1** and **st ∞** values are lower by 0.3%, 2.9% and 3% respectively, compared to BSA concentration in 25 g/l solution.

The BSA concentration increase from 25 g/l to 95 g/l leads to smooth ST reduction at all surface lifetime periods: by 3% for **st0** and **st0.02**, by 5% for **st1** and by 8% for **st ∞** . Relatively weak ST values alteration at high albumin concentrations of 25...95 g/l (**st1** – 67.9±0.5 mN/m, **st ∞** - 61.6±0.7 mN/m) can be explained by albumin association processes in the solution content, in consequence of which only non-associated molecules are capable of adsorption on the surface, their concentration in the solution being almost constant.

In total, with BSA concentration increase **from 1 g/l to 95 g/l**, the solution shows firm ST values reduction at all surface lifetime periods (strong negative correlation interrelation), but the most considerable reduction has been observed for **st1**, by 7% (from 72.2±0.1 to 66.5±0.07 mN/m) and for **st ∞** , by 15% (from 71.2±0.07 to 59.6±0.06 mN/m).

The data obtained are an appearance model, illustrating the influence of concentration alterations of albumin, basic protein component of animal biological fluids, on the ST values of the solution analyzed. This work was supported by Russian Scientific Foundation (grant 14-16-00046).

ДЕЙСТВИЕ ФРАКЦИИ КАПСАИЦИНОИДОВ СТРУЧКОВОГО ПЕРЦА НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МИТОХОНДРИЯХ

Абдуллаева Г.Т., Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Эргашев Н.А., Асраров М.И.

Институт биоорганической химии Академии наук Республики Узбекистан

Известно, что одним из механизмов нарушения функции митохондрий в различных патологиях является интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ). Индукция ПОЛ в мембранах митохондрий приводит к изменению их проницаемости, снижению мембранного потенциала, разобщению окислительного фосфорилирования. Некоторые растительные соединения, биологическая и фармакологическая активность которых обусловлена их антиоксидантными свойствами, снижают уровень малонового диальдегида (МДА) в мембранах митохондрий. Растения рода *Capsicum annuum* являются богатыми источниками капсаициноидов, обладающих высокой биологической активностью и схожей химической структурой.

Целью настоящей работы является изучение действия фракции капсаициноидов, выделенной из стручкового перца, на процесс ПОЛ мембран митохондрий, при использовании системы Fe²⁺/аскорбат в условиях *in vitro*.

Митохондрии выделяли из печени крыс методом дифференциального центрифугирования. Индукцию неферментативного Fe²⁺/аскорбат-зависимого ПОЛ проводили добавлением 10⁻⁵М FeSO₄ и 2·10⁻⁴ М аскорбата в среду инкубации, содержащую 125 мМ KCl, 10мМ Трис-HCl, pH 7,5. Количество образовавшегося МДА рассчитывали, пользуясь коэффициентом молярной экстинкции ($\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) по следующей формуле: нмоль МДА/мг белка = D / 1.56 x 30.

Эксперименты показали, что добавление в среду инкубации системы Fe²⁺/аскорбат увеличивало накопление МДА в мембранах митохондрий (3,22 нмоль МДА/мг белка). Добавление фракции капсаициноидов в концентрации 1 мкг/мл предотвращало эффект системы Fe²⁺/аскорбат (2,98 нмоль МДА/мг белка) на ПОЛ мембранах. Ингибирование процесса ПОЛ наблюдалось также при действии других концентрациях капсаициноидов. Так, фракция капсаициноидов при концентрации 10 мкг/мл уменьшала накопление МДА до 2,57 нмоль МДА/мг белка, 30 мкг/мл до 1,70 нмоль МДА/мг белка. Полное ингибирование процесса ПОЛ отмечалось при концентрации капсаициноидов 50 мкг/мл.

Таким образом, нами установлено, что фракция капсаициноидов обладает антиоксидантными свойствами и оказывают протекторное действие на мембраны митохондрий, уменьшая повреждающее действие системы Fe²⁺/аскорбат.

**ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ NADH-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ИЗ
METHYLOCOCCUS CAPSULATUS (M) В ПРИСУТСТВИИ
МЕТАНОБАКТИНА И Cu^{2+}**

Авдеева Л.В.

ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия

tuman@cat.icp.ac.ru

Метанотрофы окисляют метан до углекислого газа при нормальных условиях. Окисление метана до метанола катализирует фермент - метанмонооксиогеназа. Известны две формы этого фермента: растворимая и мембраносвязанная. Мембраносвязанная метанмонооксиогеназа представляет собой мультибелковый комплекс: мембраносвязанная метангидроксилаза, NADH-оксидоредуктаза и ряд переносчиков электронов (возможно цитохромы, убихиноны, метанобактин и др.).

Целью данного исследования было изучение влияния ионов Cu^{2+} в присутствии метанобактина на ферментативную активность NADH-оксидоредуктазы из метанооксилирующих бактерий *Methylococcus capsulatus* (M).

В данной работе были выделены метанобактин и NADH- оксидоредуктаза из *Methylococcus capsulatus* (M). Было изучено влияние ионов Cu^{2+} на ферментативную активность NADH-оксидоредуктазы. Ферментативную активность NADH-оксидоредуктазы определяли спектрофотометрически по скорости восстановления йоднитротетразолия хлористого до формазана. Установлено, что при концентрации 4,5 мкМ Cu^{2+} и выше наблюдается осаждение NADH-оксидоредуктазы и резкое ингибирование ферментативной активности. Следовательно, медь в несвязанном состоянии очень токсична для данного фермента. Введение метанобактина повышало устойчивость NADH-оксидоредуктазы к ионам меди. Показано, что связывая медь метанобактин, предотвращает ингибирование активности NADH-оксидоредуктазы. В то же время введение в реакционную среду Cu^{2+} - метанобактина приводило к незначительному стимулированию ферментативной активности NADH-оксидоредуктазы.

**АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ИЗОЦИТРАТЛИАЗЫ, МАЛАТСИНТАЗЫ,
МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В КЛЕТОЧНЫХ
ФРАКЦИЯХ ГОМОГЕНАТА ПЕЧЕНИ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Агафонова А.В., Галочкина В.П.

ФГБНУ ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных, Боровск, Россия

serna-sun@mail.ru

Изоцитратлиаза и малатсинтаза являются ключевыми ферментами глиоксилатного цикла. Функционирование реакций глиоксилатного цикла у высших животных остается дискуссионным вопросом. До сих пор нет достоверного подтверждения наличия в геноме млекопитающих гена, кодирующего белок с изоцитратлиазной и малатсинтазной активностью. Однако, в конце 20 века и начале 21, была выявлена активность маркерных ферментов глиоксилатного цикла у лабораторных крыс при сильных метаболических стрессах, характеризующихся в первую очередь дефицитом глюкозы. В такой метаболической ситуации организм нуждается в функционировании глиоксилатного цикла, поскольку с помощью реакций цикла может быть обеспечен биосинтез недостающей глюкозы из липидных метаболитов. Из-за особенностей физиологии пищеварения у жвачных животных из пищеварительного тракта в кровь поступает очень малое количество глюкозы и большое - уксусной кислоты. При таком метаболическом состоянии как раз и необходимо функционирование глиоксилатного цикла для нормализации метаболических процессов в организме животного.

По итогам проведенных анализов в гомогенатах ткани печени была выявлена активность ИЦЛ ($2,266 \pm 0,275$ Ед/г белка) и МС ($1,126 \pm 0,155$ Ед/г белка). При проведении дифференцированного центрифугирования было установлено, что в митохондриальной фракции данные ферменты не проявляли свою активность, а в пероксисомальной фракции активность ИЦЛ была в 2 раза ниже, а МС в 2 раза выше общегомогенатной активности. Известно существование трех изоформ МДГ: цитоплазматической, митохондриальной и

пероксисомальной. Активность МДГ равномерно распределилась между двумя фракциями (0,004 Ед/г белка), что служит подтверждением работы пероксисомальной МДГ у жвачных животных наравне с ее митохондриальной формой. Наблюдалось десятикратное увеличение активности МДГ на фоне остальных дегидрогеназ цикла Кребса, что объясняется дополнительным поступлением сукцината в цикл Кребса в процессе метаболизма пропионата и из глиоксилатного цикла.

Таким образом, полученные нами данные подтверждают гипотезу о постоянном функционировании у жвачных животных глиоксилатного цикла и его пероксисомальную локализацию.

Работа проведена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 11-04-97520 и 14-44-03033.

АТР-ЗАВИСИМОЕ УСИЛЕНИЕ ПАЛЬМИТИНОВОЙ КИСЛОТОЙ МОНОАМИНОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ

Адакеева С.И., Дубинин М.В., Краснощекова О.Э., Самарцев В.Н.

ФГБОУ ВПО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

svetlana_adakeeva@mail.ru

Исследовано влияние пальмитиновой кислоты (ПК) на моноаминоксидазную (МАО) активность в митохондриях печени в отсутствие и присутствии АТР. МАО активность определяли путем регистрации потребления кислорода митохондриями при окислении дофамина с помощью кислородного электрода типа Кларк. Установлено, что зависимость скорости дыхания митохондрий печени от концентрации дофамина имеет гиперболический характер. Это позволяет для характеристики моноаминоксидазной активности митохондрий печени использовать измеряемые величины K_m и V_{max} . Значения этих величин в наших условиях составляют 149 ± 11 мкМ и $3,17 \pm 0,21$ нмоль O_2 /мин на 1 мг белка ($n=4$) соответственно. Под влиянием 50 мкМ ПК значение K_m уменьшается до 43 ± 3 мкМ ($n=4$) без изменения V_{max} . Такое усиление МАО активности митохондрий ПК может быть связано с ее способностью, как амфифильного соединения, увеличивать плотность отрицательных зарядов на поверхности наружной мембраны митохондрий. Это в свою очередь приводит к увеличению локальной концентрации катионов дофамина вблизи расположенной на наружной мембране МАО. Добавление 2 мМ АТР к митохондриям в присутствии ПК приводит к увеличению K_m для дофамина до 120 ± 7 мкМ ($n=5$) без изменения V_{max} . Такое действие АТР не наблюдается в присутствии ингибитора F_0F_1 -АТР-синтазы олигомицина. Следовательно, устранение активирующего действия ПК с помощью АТР обусловлено энергизацией митохондрий. Предполагается, что, под влиянием вызванного гидролизом АТР векторного переноса H^+ из матрикса в межмембранное пространство митохондрий существенно снижается количество анионов ПК на наружном монослое внутренней мембраны этих органелл. Это может быть обусловлено протонированием анионов ПК и последующим переходом большей части их нейтральных молекул с наружного монослоя внутренней мембраны на внутренний монослой. В этом случае находящиеся на наружной мембране молекулы ПК будут перемещаться на наружный монослой внутренней мембраны с последующим переходом на внутренний монослой.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 14-04-00688-а) и Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПИНЕАЛОНА НА КИСЛОТНУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ И ПРОЦЕССЫ ПОЛ В КРОВИ ПРИ ИНТЕНСИВНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ

Саидов М.Б., Айгунова З.А.

ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

smagras@mail.ru

Целью данной работы явилось исследование популяционного состава и процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме и эритроцитах крови крыс при интенсивной физической нагрузке на фоне введения пинеалона.

Наши данные по исследованию популяционного состава эритроцитов и определению продукта ПОЛ-малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах и плазме крови интактных крыс находятся в удовлетворительном согласии с литературными данными. Интенсивная физическая нагрузка не вносит существенных изменений в процентное содержание пониженностойких и среднестойких форм эритроцитов по отношению к интактному контролю и контролю с введением пинеалона. В то же время при интенсивной физической нагрузке на 36 и 59% снижается содержание повышенностойких и высокостойких форм эритроцитов, соответственно. При этом существенно возрастает (на 436%) содержание сверхвысокостойких эритроцитов. Вероятно, усиление выброса молодых форм эритроцитов в кровь носит адаптивный характер, направленный на поддержание усиленного кислородного запроса при интенсивной физической нагрузке. Популяции эритроцитов, кроме популяции сверхвысокостойких эритроцитов, при интенсивной физической нагрузке на фоне введения пинеалона существенным изменениям не подвергаются по сравнению с состоянием без применения пептида. При введении пинеалона содержание сверхвысокостойких клеток увеличивается на 800% относительно интактного контроля и на 118% относительно группы животных, получавших интенсивную физическую нагрузку. При этом, продолжительность гемолиза, характеризующий резистентность эритроцитов к гемолизирующему агенту также увеличивается, достигая 12,5 минут. Можно думать, что те адаптивные изменения в популяциях эритроцитов, которые имели место при интенсивной физической нагрузке, сохраняются при использовании пинеалона. В то же время интенсивная физическая нагрузка приводит к достоверному увеличению содержания промежуточного продукта ПОЛ-МДА в эритроцитах и плазме крови. Таким образом, интенсивная физическая нагрузка способствует значительному снижению содержания повышенностойких и высокостойких эритроцитов в крови. При этом существенно возрастает процентное содержание сверхвысокостойких эритроцитов. Достоверное увеличение содержания продукта ПОЛ-МДА как в плазме, так и эритроцитах при интенсивной физической нагрузке говорит об интенсификации при этом процессов ПОЛ. Введение пинеалона способствует снижению выраженности процессов пероксидации липидов мембран эритроцитов и плазмы крови при физической нагрузке.

ДЕЙСТВИЕ БЕНЗАМИДА НА АКТИВНОСТЬ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ 1 В ЯДРАХ ТИМОЦИТОВ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИСПЛАТИНА

Асатрян А.Л., Арцруни И.Г., Матинян К.С., Геворкян Э.С.

Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

anushassatryan@gmail.com

Поиск минимальных эффективных доз противоопухолевых препаратов является актуальной задачей современной химиотерапии. Ингибиторы активности поли(АДФ-рибозо)полимеразы 1 (ПАРП 1) повышают чувствительность раковых клеток к действию ДНК-алкилирующих препаратов. В настоящее время ингибиторы ПАРП 1 проходят клинические испытания в качестве монотерапевтических агентов, а также при сочетанном применении с классическим противоопухолевым препаратом цисплатином. Однако процесс ингибирования активности ПАРП 1 после введения цисплатина в ядрах тимоцитов недостаточно изучен, хотя известно, что одним из нежелательных побочных эффектов цисплатина является резкое угнетение лимфопозеза. В настоящей работе исследовали действие конкурентного ингибитора

ПАРП 1 бензамида на активность фермента в ядрах тимоцитов крыс после введения животным цисплатина. Ранее нами были выявлены половые различия в действии цисплатина (10мг/1000г, 48ч.) на активность ПАРП 1 в ядрах тимоцитов крыс. Результаты настоящей работы показали, что бензамид (20 мМ) подавляет активность ПАРП 1 в ядрах тимоцитов самок и самцов в разной степени. Однако половые различия в ингибировании активности фермента исчезают после введения животным цисплатина (10мг/1000г, 48 ч.) Разная степень ингибирования активности ПАРП 1 бензамидом в ядрах тимоцитов может быть обусловлена фармакогенетическими особенностями организма. Защитные механизмы детоксикации, которые активируются после введения цисплатина, по-видимому, нивелируют фармакогенетические особенности, связанные с полом животных.

HSP70 ЗАЩИЩАЕТ НЕЙРОНАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ОТ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ИЗОФОРМ БЕТА-АМИЛОИДА

Барыкин Е.П.¹, Митькевич В.А.¹, Куликова А.А.¹, Петрушанко И.Ю.¹, Юринская М.М.², Винокуров М.Г.², Евгеньев М.Б.¹, Козин С.А.¹, Макаров А.А.¹

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва;

²ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

eugbar96@gmail.com

Важнейшей нейроморфологической характеристикой болезни Альцгеймера является формирование амилоидных бляшек в результате накопления бета-амилоида. Патологическое действие бета-амилоида связано с нейротоксичностью его растворимых олигомеров. Такие олигомеры формируются из различных изоформ бета-амилоида при связывании ионов металлов. Ранее мы показали, что металл-связывающий домен 1-16 бета-амилоида играет важную роль в патологической олигомеризации Аβ.

В данном исследовании было показано, что изоформы бета-амилоида, содержащие мутации в фрагменте 1-16, более токсичны для клеточной линии нейронов человека NSC-hTERT и клеток нейробластомы SK-N-SH по сравнению с интактным Аβ. Действие пептидов, содержащих “Тайваньскую” мутацию D7H, изомеризованный остаток аспарагиновой кислоты в положении 7 (isoD7-Аβ), фосфорилированный остаток серина в положении 8 (pS8-Аβ) и комбинированного пептида isoD7-ps8-Аβ, приводило к снижению митохондриального потенциала и индукции апоптоза в клетках. Нами показано, что белок теплового шока HSP70 эффективно защищает клетки NSC-hTERT и SK-N-SH от токсического действия Аβ и его изоформ. Кроме того, под действием HSP70 снижалась индуцируемая Аβ продукция фактора некроза опухоли TNF-1 в моноцитарной линии THP-1, что на уровне организма может приводить к увеличению выживаемости нейронов. Таким образом, HSP70 может оказывать как прямой, так и опосредованный защитный эффект на нейрональные клетки, подвергнутые действию Аβ.

РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ПРОТОТИПИРОВАНИЯ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Белините М.А., Перес Э.Л., Фаттахова А.Н.

ФГАОУ ВПО Казанский федеральный (Приволжский) университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

labasritas@yandex.ru

С каждым годом растет потребность в большом количестве клеток в области клеточных технологий и регенеративной медицины, но выделение большого количества клеток на сегодняшний момент является проблемой, следовательно, необходимо создание новых технологичных, недорогих, безопасных и эффективных субстратов. На данный момент для культивирования клеток чаще всего используют пластик, который содержит эстрогеноподобное вещество бисфенол А, которое FDA (<http://www.fda.gov/>), признало токсичным для человека, кроме того, способствует неконтролируемому росту клеток. Выбор

поверхности роста для культивирования клеток также должен быть основан на применении. Стекло и пластмассовые поверхности роста являются плоскими и оптически во многом отличаются, что может повлиять на производительность в различных приложениях.

Целью нашего исследования является создание 2D-матрицы, обладающей поверхностным зарядом и бороздчатой контактной поверхностью на основе фотостекла (ГОСТ 683-85) с помощью бомбардировки поверхности ионами ксенона в вакууме.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи: 1) исследовать процесс адгезии клеток из различных источников на разных подложках; 2) установить физические параметры обработки поверхности стекла результатов роста клеток; 3) изучить биохимические параметры клеток выращенных на биоматрицах из модифицированного стекла;

В результате НИР, на данный момент получено, что стеклянные поверхности, подвергшиеся ионно-лучевой обработке являются подходящей подложкой для культивирования клеточных культур разных видов (животных и бактериальных), так как наблюдается активный рост клеток ($2,8 \pm 0,2$ раза увеличение количества гепатоцитов, $1,5 \pm 0,5$ раза увеличение числа фибробластов, *Candida albicans* - в $1,9 \pm 0,2$ раза больше, чем на контрольной подложке) и образование монослоя.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДОВ СИСТЕМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В СОЧЕТАНИИ С ДРУГИМИ АНТИБИОТИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Буцкина Е.А.

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

butskina.ekaterina@mail.ru

Антимикробные пептиды (АМП) являются одними из ключевых молекул врожденного иммунитета животных и человека. Они могут рассматриваться в качестве прототипов новых антибиотических препаратов. Однако существует проблема, связанная с использованием АМП в медицине: большинство АМП, имеющих высокую антимикробную активность, токсичны в отношении собственных клеток организма. Для решения проблемы, связанной с токсичностью АМП есть два пути:

создание структурных аналогов АМП путем изменения заряда, гидрофобности, амфипатичности молекул пептидов для отбора соединений, обладающих высокой антимикробной активностью и низкой токсичностью для клеток человека;

применение АМП в комбинации с другими антимикробными соединениями, с которыми наблюдается синергическое антибактериальное действие, - что позволит снизить эффективные концентрации АМП.

В данной работе мы пошли по второму пути, то есть изучали совместное действие *in vitro* АМП протегрин-1 (ПГ-1) с антибиотическими соединениями, имеющими различные мишени антибактериального действия (даптомицином, актиномицином) в отношении грамположительных бактерий устойчивых и чувствительных к даптомицину *Staphylococcus aureus* NCTC 8325, *Staphylococcus aureus* SG-511 и грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* ML-35p.

Для анализа совместной активности использовали метод серийных разведений по схеме «шахматной доски». Характер совместного действия оценивали по индексу фракционной ингибирующей концентрации (иФИК): согласно методике иФИК $\leq 0,5$ – синергизм, $0,5 < \text{иФИК} \leq 1$ – аддитивное действие, $1 < \text{иФИК} \leq 2$ – индифферентное (независимое) действие, иФИК > 2 – антагонистическое действие.

Синергический эффект выявлен для комбинаций даптомицина и ПГ-1 против чувствительных и устойчивых к даптомицину *S. aureus* SG-511. Аддитивный эффект выявлен для комбинаций даптомицина и ПГ-1 против чувствительных и устойчивых к даптомицину *S. aureus* NCTC 8325.

Аддитивный эффект выявлен для комбинаций ПГ-1 и актиномицина против чувствительного к даптомицину *S. aureus* SG-511. Синергический эффект выявлен для комбинаций ПГ-1 и актиномицина против *E. coli* ML-35p. Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-02102.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

**Валиуллина А.Х.¹, Хайбуллина С.Ф.¹, Мартынова Е.В.¹, Иванова В.В.¹,
Анохин В.А.², Ризванов А.А.¹**

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

aigul1692@mail.ru

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) - зоонозная болезнь с множественными механизмами заражения, вызываемая РНК-содержащим вирусом, семейства *Hanta*. Клинически протекает с интоксикационным и геморрагическим синдромами, поражением почек и других органов.

Патологический процесс при ГЛПС развивается стадийно. Наиболее важной стадией является внедрение вируса в слизистые оболочки дыхательных путей и размножение вируса в лимфатических узлах.

Вирусу необходимы липидные включения для наилучшего проникновения в клетку-мишень, определение липидного профиля у больных ГЛПС является перспективным направлением и легким диагностическим критерием тяжести заболевания. Следовательно, уровень липидного профиля может помочь в диагностике тяжести заболевания ГЛПС на ранних этапах.

Все больные ГЛПС были госпитализированы в ГУАЗ РКИБ им. Агафонова. В стерильных условиях квалифицированным медицинским персоналом производили забор сыворотки крови. Количество больных составило 61 человек, из них 19 с тяжелой формой болезни и 42 средней степени тяжести. Здоровый контроль составил 41 человек без признаков ГЛПС и поражений почек. Исследования проводили в различных периодах заболевания. Показатели липидного профиля в сыворотке здоровых и больных определяли наборами: Новохол, Триглицериды-Ново, ЛВП-Холестерин-Ново-А (Вектор-бест, Новосибирск). У больных и здорового контроля определяли липидный профиль, уровень триглицеридов, липопротеиды высокой плотности, липопротеиды низкой плотности, липопротеиды очень низкой плотности, коэффициент атерогенности. Было показано, что у всех групп обследованных больных по сравнению с контролем повышено среднее значение триглицеридов в сыворотке крови. Наиболее высокие показатели были среди тех, кто перенес тяжелую форму заболевания. Показатели колебались в пределах от 3 до 6 норм.

У 14% больных в крови был выявлен высокий уровень холестерина и составил от 5,3 ммоль/л и выше, у 11% больных высокий уровень от 6,3-7,5 ммоль/л и очень высокий более 7,5 ммоль/л – у 7% больных. Гипертриглицеридемия была выявлена у 72% пациентов. Сочетание гипертриглицеридемии и гиперхолестеринемии обнаружено в 8% случаев. Повышение липопротеидов высокой плотности было отмечено у – 65%, повышение коэффициента атерогенности было выявлено у 42% больных. Липопротеиды низкой плотности были повышены у 32% больных. Липопротеины очень низкой плотности были увеличены у 42% больных.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ 2А-ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В КОНТЕКСТЕ МУЛЬТИЦИСТРОННОЙ АДЕНОВИРУСНОЙ КОНСТРУКЦИИ *IN VIVO*

Гаранина Е.Е., Ризванов А.А.

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

kathryn.cherenkova@gmail.com

Вектора на основе аденовирусов имеют ряд привлекательных особенностей, обуславливающих их широкое применение в биомедицине и генно-клеточной терапии. Помимо поиска подходящего вектора-переносчика немаловажным остается выбор стратегии ко-экспрессии нескольких генов с одной открытой рамки считывания. Применение 2А-аминокислотных последовательностей вируса ящура для достижения эквивалентного выхода белков привлекательно ввиду малого размера, что позволяет значительно сэкономить

генетическую информацию. С другой стороны, в результате трансляционного гидролиза и последующего фолдинга велик риск получения белкового продукта, обладающего высокой иммуногенностью.

Цель работы – исследование иммуногенных свойств 2А-пептидного препарата на основе репликационно-дефектного аденовируса, ко-экспрессирующего гены *veg165* и *fgf2 in vivo*. Первоначально с использованием геноспецифичных праймеров, а также технологии клонирования Gateway нами был получен репликационно-дефектный аденовирус Ad5-VEGF165-FuP2A-FGF2.

Исследование иммуногенных свойств 2А-пептидного мультицистронного препарата проводили на половозрелых самцах белых лабораторных мышей. Предварительно проводили сбор преиммунной сыворотки. Далее каждому животному внутримышечно вводили по 3×10^9 вирусных частиц диализованного аденовируса Ad5-VEGF165-FuP2A-FGF2. Через 28 суток производили забор крови с последующим получением сыворотки и повторным введением аденовирусного препарата. Финальный сбор биоматериала производили из венозного синуса в присутствии хлоралгидрата через 14 суток после повторного введения. Иммуногенность 2А-пептидного препарата оценивали методом иммуноферментного анализа. В качестве антигена использовали конъюгат 2А-пептида, растворенный в 8М мочеvine и 0,05М карбонат-бикарбонатном буфере. Положительным контролем служили коммерческие антитела к 2А-антигену вируса ящура.

Были получены следующие результаты. Статистически значимого иммунного ответа при введении рекомбинантного аденовируса, содержащего 2А-пептидные последовательности вируса ящура, не наблюдалось у всех подопытных животных. Однако при проведении ИФА к антигену вирусных белков наблюдалось статистически значимое увеличение показателей, что свидетельствует об очевидном иммунном ответе на аденовирусные белки.

Таким образом, мультицистронные конструкции на основе репликационно дефектных аденовирусов, содержащих в своем составе 2А-аминокислотные последовательности вируса ящура, можно применять в генотерапевтических работах.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ И АКТИВНОСТИ КАЛЬПАИНОВ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ ГИБЕРНИРУЮЩИХ СУСЛИКОВ И ХРОНИЧЕСКИ-АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС

Грицына Ю.В.¹, Попова С.С.², Вихлянцев И.М.¹, Подлубная З.А.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

gri23.86@mail.ru

Известно, что атрофические изменения в скелетных мышцах происходят у зимоспящих животных во время гибернации, а также у человека и животных при развитии патологических процессов, в частности, алкогольной миопатии. Эти изменения сопровождаются снижением содержания гигантских белков саркомерного цитоскелета тайтина (коннектина) и небулина, являющихся субстратами кальций-зависимых протеаз – кальпаинов. В данной работе методами казеиновой зимографии, ДСН-гель-электрофореза и Вестерн-блоттинга проведены исследования активности и содержания кальпаина-1 и кальпаина-2 в скелетных (*m. soleus*, *m. longissimus dorsi*) мышцах хронически-алкоголизованных крыс и длиннохвостых сусликов (*Spermophilus undulatus*), находящихся в состоянии спячки или летней активности. Отдельной задачей являлось изучение изменений содержания кальпастина (ингибитора кальпаинов) в скелетных мышцах указанных животных. Обнаружено двукратное увеличение активности кальпаинов в мышечном экстракте, полученном из скелетных мышц спящих сусликов. По всей вероятности, это увеличение связано с уменьшением содержания кальпастина, обнаруженное нами в скелетных мышцах спящих сусликов. Адаптационное значение этих изменений, по-видимому, заключается в увеличении протеолитической активности кальпаинов в скелетных мышцах суслика во время выхода из спячки и в период межбаутной активности, когда происходит гиперактивация белкового синтеза.

В мышечном экстракте, полученном из скелетных мышц крыс, подверженных хронической алкоголизации в течение 6 месяцев, выявлено снижение (в ~1.4 раза) активности кальпаинов,

что может быть связано как с уменьшением (в ~1.5 раза) содержания кальпаина-2, так и увеличением (в ~1.5 раза) содержания кальпастина. Известно, что развитие нарушений, индуцированных алкоголем, в мышцах приводит к подавлению белкового синтеза. Данные этих авторов, а также результаты наших исследований, свидетельствующие об уменьшении протеолитической активности кальпаинов, указывают на снижение скорости белкового оборота в скелетных мышцах хронически-алкоголизированных крыс. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения адаптационного или патологического характера выявленных изменений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 13-04-00281, № 14-04-00112).

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ

Исмаилова Ж.Г., Мусаева Н.А.

ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

jamilja@mail.ru

Свободно-радикальные реакции в клетках протекают при физиологических состояниях. Антиоксидантная система ограничивает интенсивность этих реакций. Однако при нестандартных, стрессовых ситуациях свободно-радикальные реакции ускоряются в разы. Известно, что снижение температуры тела теплокровных животных оказывает эффект холодового стресса. Тем не менее, в некоторых отраслях медицины используют гипотермию для защиты мозга и сердца от повреждающего действия ишемии и реперфузии. Поэтому является актуальным выяснение механизмов развития осложнений при применении этого метода, а также способов коррекции этих изменений. В связи с этим нами было исследовано влияние витамина С и витамина Е на уровень свободно-радикальных процессов в крови.

Введение витамина С в течение недели предотвращает рост содержания малонового диальдегида (МДА) в плазме крови при гипотермии 30°C. Известно, что аскорбиновая кислота в форме аскорбат-иона защищает липиды от окисления пероксидными радикалами, являясь тем самым самым важным эндогенным антиоксидантом плазмы крови. Однако в эритроцитах аскорбат оказал прооксидантный эффект. Прооксидантный эффект аскорбата может проявляться при недостаточном количестве в организме токоферола и глутатиона. Так же были проведены серии экспериментов с введением в течение 7 дней витамина Е. Введение витамина Е не оказывало влияние на уровень МДА в плазме крови при гипотермии 30°C. В эритроцитах при этом состоянии содержание МДА уменьшается. Противоположное действие витамина С и витамина Е, видимо, связано с различием в действии этих витаминов в плазме крови и эритроцитах. Витамин Е способен перехватывать липидный пероксильный радикал и тем самым защищать липидные структуры мембран. Нами выявлено, что совместное введение витаминов С и Е оказало более эффективное антиоксидантное действие на процессы ПОЛ в крови: в плазме крови существенно снижается содержание МДА, а в эритроцитах предотвращается рост его уровня. Были проведены исследования влияния витаминов С и Е на содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах. Обнаружено, что введение этих витаминов (и раздельное и сочетанное) предотвращает снижение содержания восстановленного глутатиона.

Таким образом, полученные нами результаты говорят в пользу того, что эти витамины оказывают протекторное действие, снижая риск окислительных повреждений липидов.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИММУНОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНДОПЕПТИДАЗЫ Л5 *LYSOBACTER* SP. XL1 НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

**Каратовская А.П.^{1,2}, Руденко Н.В.^{1,2}, Цфасман И.М.³, Ламан А.Г.², Бровко Ф.А.^{1,2},
Васильева Н.В.³**

¹ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт,
²Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, ³ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрабина РАН, Пущино, Россия

annakaratovskaya@mail.ru

Грамотрицательная бактерия *Lysobacter* sp. XL1 выделяет в окружающую среду ферменты, лизирующие широкий спектр микроорганизмов. Наиболее охарактеризованы из них гомологичные сериновые эндопептидазы Л1 и Л5. Несмотря на близость первичной структуры, ферменты гидролизуют разный спектр тест-культур. Показано также, что фермент Л5, в отличие от Л1, секретрируется в окружающую среду посредством мембранных везикул.

Задачей данной работы является разработка метода определения фермента Л5 на основе моноклональных антител. Вследствие высокой степени гомологии первичной структуры антитела против эндопептидазы Л5 узнавали и Л1. Для предотвращения иммуноперекрестных реакций в аминокислотной последовательности белка Л5 выбрали два участка, с первичной структурой максимально отличающейся от таковой в ферменте Л1. Были синтезированы два пептида, структура которых соответствовала выбранным участкам. Каждый из пептидов конъюгировали с гемоцианином улитки с помощью глутарового альдегида. Полученные конъюгаты использовали для иммунизации животных. С помощью гибридной технологии были получены моноклональные антитела против пептида №1- P1L5-5, P1L5-6 и против пептида №2 - P2L5-4, P2L5-5, P2L5-8, P2L5-9, которые узнавали только фермент Л5. Для количественного определения денатурированной формы фермента Л5 разрабатывали тест-систему в формате сэндвич-иммуноферментного анализа. Пара антител P1L5-6 + P2L5-4bio детектировала фермент Л5 вплоть до концентрации 1,5 нг/мл. Сложные биологические смеси, такие как культуральные жидкости и клеточные лизаты, представляющие собой высококонцентрированные растворы, требуют особых условий денатурации. С этой целью был разработан метод денатурации щелочью с последующей нейтрализацией Трис-HCl pH 7,0, что позволило не только денатурировать белки, но и избежать их агрегации. Разработанный метод может быть применен для исследования топогенеза фермента.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-00644.

АДДИТИВНЫЙ ЭФФЕКТ ИЗОМЕРИЗАЦИИ ПО ASP7 И ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ПО SER8 БЕТА-АМИЛОИДА НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ИОНАМИ ЦИНКА И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Кечко О.И.^{1,2}, Митькевич В.А.¹, Куликова А.А.¹, Козин С.А.¹, Макаров А.А.¹
¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН; ²ФГБОУ ВО
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

olga.kechko@gmail.com

Согласно «амилоидной гипотезе» агрегация бета-амилоидного пептида (A β) лежит в основе развития болезни Альцгеймера. Молекулярный механизм агрегации A β остается неясным. Важную роль в этом процессе играют ионы цинка. Наличие модификаций в металл-связывающем домене A β ₁₋₁₆ существенно влияет на агрегационные и токсические свойства полноразмерной молекулы A β ₁₋₄₂. Недавно было показано, что изомеризованная по Asp7 (isoD7A β ₁₋₄₂) и фосфорилированная по Ser8 (pS8A β ₁₋₄₂) изоформы A β образуют токсичные агрегаты A β . Мы охарактеризовали взаимодействие изоформы isoD7pS8A β ₁₋₁₆, несущей обе такие модификации, с ионами цинка, а также цитотоксические свойства полноразмерной формы isoD7pS8A β ₁₋₄₂. С помощью изотермической калориметрии титрования мы установили,

что в отличие от нативной формы $A\beta_{1-16}$, которая связывает один ион цинка, изоформы $isoD7A\beta_{1-16}$, $pS8A\beta_{1-16}$ и $isoD7pS8A\beta_{1-16}$ имеют два сайта взаимодействия с ионами цинка, причем стехиометрия первого сайта близка к 1, а второго – к 0.5, что свидетельствует об образовании димеров. Показано, что константа ассоциации в сайте димеризации $isoD7pS8A\beta_{1-16}$ на два порядка выше, чем у остальных изоформ. Цитотоксические свойства полноразмерных изоформ Ab_{1-42} были охарактеризованы на клетках нейробластомы человека линии SK-N-SH с помощью технологии xCelligence. Оказалось, что клеточный индекс под действием $A\beta_{1-42}$, $isoD7A\beta_{1-42}$, $pS8A\beta_{1-42}$ и $isoD7pS8A\beta_{1-42}$ в течение 30 ч. снижался на 27, 35, 41 и 45% соответственно. Следовательно, как изомеризация Asp7, так и фосфорилирование Ser8 усиливают токсические свойства Ab_{1-42} . Наличие же двух модификаций в пептиде $isoD7pS8A\beta_{1-42}$ делает этот вариант наиболее сильным токсикантом. Таким образом, изоформа $isoD7pS8A\beta_{1-42}$ обладает наибольшей агрегационной способностью и цитотоксичностью среди всех рассматриваемых модификаций.

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ АМФИБИЙ УРБАНИЗИРОВАННОЙ ТЕРРИТОРИИ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Козырева А.В., Романова Е.Б., Сорочкина Л.В.

ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

anya_kozyreva@bk.ru

Известно, что любой стресс сопровождается кратковременной активацией свободно-радикальных процессов, запускающих каскад реакций, направленных на обеспечение выживания организма в экстремальных условиях.

Цель работы – оценка интенсивности окислительной модификации белков (ОМБ) и активности антиоксидантной системы крови озерных и прудовых лягушек, обитающих на урбанизированной территории г. Нижнего Новгорода и Нижегородской области.

ОМБ сыворотки крови лягушек оценивали по методу Дубининой, 2006. Интенсивность свободно-радикального окисления – методом индуцированной биохемиллюминесценции (БХЛ). Полученные экспериментальные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с применением пакета прикладных программ Statistica 10.0. За величину уровня статистической значимости принимали $p = 0,05$.

Интенсивности окислительных процессов в организме прудовых лягушек определялась качественной характеристикой и генетическим типом водной среды обитания. Следствием активации свободно-радикальных реакций являлось значительное увеличение суммарного содержания ОМБ. Высокая чувствительность к окислению отмечена и для альдегидных, и для кетонных продуктов. Наиболее интенсивные процессы окисления выявлены у популяций лягушек, обитающих в искусственных бессточных водоемах. Значение $tg(-2a')$ у озерных лягушек, оказалось ниже (в 2-3 раза), по сравнению с прудовыми, что свидетельствовало о снижении скорости восстановления антиоксидантной системы. Показатели БХЛ у прудовых лягушек искусственных бессточных озер, отличались от показателей озерных лягушек. Уровень свободных радикалов повышался в 1.74 раза, а скорость восстановления возрастала в 2.98 раза, на фоне одинаковой активности антиоксидантной системы защиты обоих видов. Выявлено снижение работы антиоксидантной системы и повышение продукции свободных радикалов в крови прудовых лягушек естественных пойменных озер.

Корреляционный анализ между группами показателей ОМБ и БХЛ выявил статистически значимую корреляцию в большинстве сравниваемых пар. Выявлена отрицательная умеренная корреляция ($r = -0.3626$; $p = 0.0089$) между интенсивностью окисления кетонных групп в молекулах белка и максимальной интенсивностью свечения, показывающей потенциальную способность белков к свободно-радикальному окислению. Полученные данные свидетельствует об особенностях популяционного ответа животных в условиях урбанизации.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕТЕРОГЕННЫХ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ФИЦИНА И ТРИПСИНА, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНОМ ХИТОЗАНЕ

**Королева В.А., Логинова О.О., Холявка М.Г., Артюхов В.Г., Сазыкина С.М.,
Ольшанникова С.С.**

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

koroleva_victoria@bk.ru

Хитозаны являются сополимерами 2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкозамина и 2-ацетида-2-дезоксид-β-D-глюкозамина. Молекулы хитозанов содержат гидроксильные и аминогруппы, вследствие этого их матрица позволяет сорбировать ферменты внутри сетки и на ее поверхности. Производные хитозанов характеризуются нетоксичностью, биоразлагаемостью, биосовместимостью и слабой иммуногенностью.

Цель исследования заключалась в разработке методики получения гетерогенных катализаторов на основе протеолитических ферментов, иммобилизованных на матрице средномолекулярного хитозана.

В качестве объекта исследования были выбраны фицин (Sigma) и трипсин (MP Biomedicals), субстратом для гидролиза являлись азоказеин (Sigma) и N-α-бензоил-DL-аргинин-п-нитроанилид (BAPNA) (Sigma) соответственно, носителем для иммобилизации – кислоторастворимый средномолекулярный хитозан (M_n = 200 кДа, СД = 82 %) (ЗАО «Биопрогресс»). Для сорбции протеаз на матрице средномолекулярного хитозана мы использовали следующие буферные системы: 0.05 М глициновый, 0.05 М трис-глициновый, 0.2 М ацетатный, 0.1 М фосфатный, 0.1 М цитратный, 0.05 М боратный буфер с добавлением KCl, 0.1 М боратный буфер без добавления KCl, 0.1 М карбонатный и 0.05 М трис-HCl буфер.

Оптимальное соотношение содержания белка (мг на г носителя), общей активности (в ед на мл раствора) и удельной активности (в ед на мг раствора) выявлено при иммобилизации фицина на матрице средномолекулярного хитозана при использовании глицинового буфера со значением pH 10.0. При учете тех же критериев оптимальными для иммобилизации трипсина оказались следующие буферы: цитратный со значением pH 5.0 и фосфатный в диапазоне pH 5.8-6.5.

Таким образом, мы считаем, что эти буферные системы перспективны для иммобилизации фицина и трипсина на матрице средномолекулярного хитозана.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ЛАКТОБАКТЕРИЙ И СЕЛЕНОПИРАНА НА ТИРЕОИДНЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Коткова Т.В.

ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный аграрный университет, Оренбург, Россия

t-sinykova@rambler.ru

Современное птицеводство – одна из наиболее динамичных и высокоразвитых отраслей животноводства. Одним из факторов сохранения здоровья и продуктивности сельскохозяйственных птиц является использование в кормлении биологически активных веществ, среди которых важная роль принадлежит микроэлементам.

Целью данной работы было изучить влияние скармливания добавки селенопирана совместно с пробиотическим препаратом на тиреоидный статус организма цыплят-бройлеров. Для проведения исследований было сформировано по принципу групп-аналогов 2 две группы (контрольная и опытная) по 35 голов в каждой. Общий (Об. Т₄) и свободный тироксин (Своб. Т₄), общий (Об. Т₃) и свободный (Своб. Т₃) трийодтиронин, тиреотропин (ТТГ) определяли твердофазным иммуноферментным методом с использованием соответствующих наборов реактивов фирмы «Хема» и фирмы Cusabio.

Общий анализ крови цыплят не выявил существенных межгрупповых различий по основным гематологическим показателям. Следует отметить более низкое содержание гемоглобина в крови опытной группы цыплят на 14-й день эксперимента, с одновременно более низким гематокритом, однако позднее эти показатели выровнялись и находились на близком уровне. В проведенных исследованиях уровень Об.Т₄, Об.Т₃, своб. Т₃, а также ТТГ в

возрасте 42 суток у птицы опытной группы был достоверно выше. Уровень своб. T_3 на конец эксперимента был достоверно ниже. Известно, что T_3 образуется из T_4 на периферии под действием дейодиназ. Видимо, для усиления метаболического эффекта, коим в большей степени обладает T_3 , происходит большая конверсия T_4 в T_3 , что подтверждается снижением значений отношения T_4/T_3 . Данное предположение подтверждается и результатами содержания йода в крови. У птицы, получавшей комплекс пробиотика с селенопираном, содержание йода в крови и тканях птицы было значительно выше, начиная уже с 14-го дня эксперимента. T_3 контролирует состояние энергетического обмена, то в условиях опыта это выразилось в увеличении интенсивности роста цыплят опытной группе.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ ПАЛЬМИТАТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛИПИДНОЙ ПОРЫ И АТФ-ЗАВИСИМОГО КАЛИЕВОГО КАНАЛА В МЕХАНИЗМЕ Sr^{2+} -ИНДУЦИРОВАННЫХ КОЛЕБАНИЙ ИОННЫХ ПОТОКОВ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

Кочиш И.И.^{1,2}, Белослудцева Н.В.¹

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; ²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков, Украина

natago_imagination@rambler.ru

Обратимый транспорт ионов Ca^{2+} , K^+ и H^+ через внутреннюю мембрану митохондрий *in vivo* в большой степени определяет концентрации этих ионов как в цитоплазме, так и в матриксе митохондрий, и таким образом влияет на активность целого ряда ключевых ферментов в клетке. Исследование колебаний ионных потоков в суспензии выделенных митохондрий необходимо для понимания механизма колебательных процессов в клетке и их биологического значения.

В настоящей работе экспериментально подобраны условия, которые позволяют получать длительные колебания ионных потоков и других функциональных параметров митохондрий. Колебательные процессы индуцировались добавлением ионов Ca^{2+} или Sr^{2+} (30-40 нмоль/мг белка), причем в последнем случае удавалось получить большее число циклов. Необходимым условием для возникновения колебаний служило наличие в среде небольшого количества калиевого ионофора валиномицина (1 нг/мг белка), а также гипотония. Известно, что в гипотонических условиях наблюдается активация эндогенной фосфолипазы A_2 (Фл A_2) в митохондриях.

В связи с этим, мы исследовали влияние ряда различных ингибиторов Фл A_2 . Установлено, что преинкубация митохондрий с ингибиторами Фл A_2 - AACOCF $_3$ (15 мкМ), TFP (10 мкМ), ОВАА (1 мкМ), BEL (40 мкМ) - предотвращает вторую и последующие волны спонтанных колебаний мембранного потенциала, концентраций ионов Sr^{2+} и K^+ . Кроме того, было показано, что добавление ингибитора системы транспорта K^+ - глибенкламида (2 мкМ) предупреждает возникновение второй и последующих осцилляций ионных потоков в митохондриях.

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что механизм Sr^{2+}/Ca^{2+} -осцилляций ионных потоков в митохондриях может быть опосредован накоплением свободных жирных кислот, которые, как было показано нами ранее, в комплексе с ионами Sr^{2+} (Ca^{2+}) индуцируют открытие липидной поры во внутренней мембране, а также функционированием калиевого канала в митохондриях, обеспечивающего регуляцию объема матрикса митохондрий.

Работа выполнена при финансовой поддержке стипендии Президента РФ (СП-2697.2013.4) и гранта РФФИ №15-04-03081-а.

МЕТАБОЛОМИКА КРИОБИОЗА ПИЯВКИ *OZOBRANCHUS JANTSEANUS*

Кузнецова С.В.¹, Сузуки Д.², Кикавада Т.³, Сабиров Р.М.¹, Гусев О.А.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;
²Tokyo University of Marine Science and Technology, Tokyo, Japan, Department of Zoology,
Graduate School of Science, Kyoto University, Kyoto, Japan; ³National Institute of
Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan

svtkuzn@gmail.com

Пиявка вида *Ozobranthus jantseanus* способна выдерживать крайне низкие температуры при мгновенной заморозке и без потери жизнеспособности. Например, хранение в жидком азоте (-196°C) в течение суток, хранение при крайне низкой температуре - 90°C в течение 32 месяцев, повторные циклы замораживания и оттаивания в интервале температур от 20°C до -100°C. Исследование механизмов криотолерантности пиявки *Ozobranthus jantseanus* позволит обогатить наши познания для будущих исследований криоконсервации, так как данный вид способен выдерживать более широкий диапазон температур, чем ранее известные криобиотические организмы.

Целью нашего исследования было провести скрининг изменений в профиле метаболитов пиявки в циклах заморозки и выявления возможных ассоциаций криоустойчивости с профилями конкретных метаболитов.

Данные о изменениях в профиле метаболитов пиявки до и после нескольких циклов замораживания оттаивания были получены методом капиллярной CE-TOFMS (Agilent CE-TOFMS system; Human Metabolomics Inc). Были получены профили относительного изменения концентраций более 200 метаболитов и абсолютные значения концентраций для 100 метаболитом.

При скрининге профиля было выявлено значительное нарушение гомеостаза *Ozobranthus jantseanus* после повторных циклов замораживания и оттаивания. Мы зафиксировали изменение в концентрации определенных метаболитов при криострессе, как продукты метаболизма таурина, пиримидинов, глутатиона и аланина.

АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ У ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ *RHODOVULUM STEPPENSE* ШТАММ А-20s ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПИТАНИЯ

Ларченков В.М., Ахмед А.Х., Комарова Н.Р., Колесникова Н.В., Сорокина Т.В.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

larchenkoff.vladimir@yandex.ru

Целью данной работы являлось изучение лактатдегидрогеназы у галоалкалофильной бактерии *Rhodovulum steppense*. Это может помочь в построении общей схемы обмена веществ данного микроорганизма.

Объектом исследования служили бактерии *Rhodovulum steppense* штамм А-20s, выращиваемые фототрофно в микроаэробных условиях с добавлением в питательную среду тиосульфата натрия для обеспечения фотолитотрофного питания, ацетата натрия или дрожжевого экстракта для обеспечения фотоорганотрофного питания. Очистка лактатдегидрогеназы осуществлялась с использованием ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе.

Выявлена активность лактатдегидрогеназы при всех типах питания, но при высокой концентрации органических соединений в питательной среде активность фермента резко снижалась. Получен препарат лактатдегидрогеназы из органотрофной культуры *Rhodovulum steppense* с удельной активностью 32,71 Е/мг белка и степенью очистки 87,65 раз. Определённое для этого препарата значение константы Михаэлиса по пирувату составило 0,164 мМ. При концентрации пирувата выше 0,75 мМ было зафиксировано субстратное ингибирование. Сравнение динамики активности лактатдегидрогеназы за две недели роста показало наличие данного фермента при обоих типах питания. При фотолитотрофном типе питания на 14-е сутки эксперимента наблюдалось статистически значимое повышение

удельной активности лактатдегидрогеназы относительно культуры с фотоорганотрофным типом питания.

Лактатдегидрогеназа *Rhodovulum steppense* проявляет свойства, типичные для ферментов данного типа: субстратное ингибирование пируватом, более высокое сродство фермента к пирувату при меньшем сродстве к L-лактату. Анализ динамики активности демонстрирует большое значение ЛДГ в условиях фототрофного роста. Возможно, её функцией является поддержание в клетке постоянной концентрации NAD^+ за счёт реокисления NADH , образующегося как в ходе гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, так и в ходе фотосинтеза.

ОЧИСТКА И КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ БАКТЕРИЙ *RHODOVULUM STEPPENSE* ШТАММ А-20s

Лященко М.С., Гатауллина М.О.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

lyaschenko.m@list.ru

Аноксигенные фототрофные пурпурные несерные бактерии *Rhodovulum steppense* обладают особой биологической уникальностью, связанной с разнообразием адаптационных механизмов приспособления к стрессовым воздействиям среды, характеризующейся высоким уровнем солености. Сравнительный анализ геномов и протеомов не галофильных и галофильных организмов выявляет некоторые общие тенденции у последних, которые выходят за пределы филогенетического родства и геномного GC-содержания. Особый интерес представляют модификации в структуре белков галофилов, которые характеризуются низкой гидрофобностью, преобладающим присутствием кислых остатков, в частности аспартата, и низким содержанием цистеина. Особое внимание вызывает малатдегидрогеназная система, обеспечивающая приспособление к стрессовым условиям на уровне клеточного метаболизма.

Применение многостадийной очистки позволило получить в электрофоретически гомогенном состоянии препараты двух изоформ малатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.37.) из бактерий *Rhodovulum steppense* штамм А-20s, культивируемых в аэробных условиях, с удельной активностью 3.882 Е/мг белка (степень очистки 60 раз) и 4.5 Е/мг белка (степень очистки 69,2 раза) соответственно. После ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе были зафиксированы 2 пика ферментативной активности, соответствующие двум изоформам МДГ, причём максимальная элюция одной из форм наблюдалась при концентрации 260 мМ КСl, а второй - 280 мМ КСl.

Проведенный электрофоретический анализ очищенного препарата показал, что в полиакриламидном геле при универсальном окрашивании на белки и специфическом проявлении обнаруживаются две полосы с $R_f = 0.46$ и 0.66 .

Получение высокоочищенных препаратов МДГ позволило изучить кинетические свойства фермента из исследуемых объектов. Величина K_m по оксалоацетату для двух изоформ составила 250 ± 0.59 мкМ и 293.6 ± 1.4 мкМ, по NADH - 370 ± 2.3 мкМ и 400.8 ± 2.7 мкМ.

Было изучено влияние различных концентраций ионов водорода на активность МДГ. На основании полученных результатов установлено, что для двух изоформ исследуемого фермента оптимальные значения рН, при которых обнаруживается максимальная скорость восстановления оксалоацетата находятся в щелочной области и составляют 8 и 8.5 соответственно.

Таким образом, на высокоочищенных препаратах МДГ исследованы некоторые кинетические и регуляторные свойства двух изоформ: константа Михаэлиса для прямой реакции и влияние концентрации ионов водорода.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ НА ЭКСПРЕССИЮ РЕЦЕПТОРОВ TLR-1 КЛЕТОК

Радзюкевич Я.В.^{1,2}, Серов Д.А.^{2,3,4}, Зубова С.В.², Кабанов Д.С.²

¹ФГБОУ ВПО Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль; ²ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН,

³ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт,

⁴ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

sibiryak93@mail.ru

Липополисахариды (ЛПС), как компоненты клеточной стенки грамотрицательных бактерий, являются основными агентами, вызывающими септический шок. Показано, что ЛПС могут оказывать дифференцирующее действие на незрелые клетки миелоидного ряда. Основными поверхностными рецепторами клеток, формирующими ответ на патогены, являются TLR4, CD14-, CD11b-рецепторы. Уровень этих рецепторов отражает степень дифференцировки клеток. Удобным объектом для исследования дифференцировки и влияния ЛПС на клетки иммунной системы являются клетки моноцитарной линии THP-1.

Цель исследования: Исследование зависимости дифференцирующей активности липополисахаридов от их структуры.

Материалы и методы: Материалами исследования служили ЛПС из *Escherichia coli* O55:B5, *Salmonella thyphimurium*, *Rhodobacter capsulatus* PG в конечной концентрации 500 и 1000 нг/мл. Инкубацию клеток с ЛПС проводили в течение 72 ч. Для исследования поверхностной рецепции использовали Alexa Fluor 488 моноклональные антитела: anti-human CD14, anti-human CD11b (BioLegend); anti-human CD284 (TLR4) (eBioscience). Анализ образцов проводили с помощью проточного цитофлуориметра EPICS XL-MCL (Beckman Coulter, США). Успешность дифференцировки THP-1 клеток оценивали методом проточной цитофлуориметрии, измеряя уровень экспрессии TLR4, CD14 и CD11b рецепторов по величине средней интенсивности флуоресценции (MnI X) образца.

Результаты и обсуждение: Полученные результаты показали, что инкубация THP-1 клеток с ЛПС из *E. coli* или *Salmonella* оказывала влияние на собственную флуоресценцию клеток, что может быть связано с изменением их морфологии. Эти ЛПС также вызывали заметное изменение уровня всех исследуемых рецепторов. Уровень TLR4 возрастал в 2-2,5 раза, CD11b – 3,5-4 раза, CD14 – по крайней мере, в 10 раз по сравнению с контролем. Достоверных различий в экспрессии рецепторов при инкубации с ЛПС из *E. coli* и *Salmonella* не обнаружено. Наблюдалась зависимость экспрессии рецепторов от концентрации эндотоксинов. Нетоксичный ЛПС из *R. capsulatus* практически не влиял на уровень TLR4 и CD11b, повышая при этом уровень CD14 в несколько раз.

Выводы: Наибольшей активностью в экспрессии исследуемых рецепторов обладают эндотоксины, содержащие в своей структуре не менее шести жирных кислот.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТВОРА ХИТОЗАНА В АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЕ

Родина Н.А., Безруков М.Е.

ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (Национальный исследовательский университет), Нижний Новгород, Россия

natalek994@mail.ru

Интерес к хитозану связан с его уникальными физиологическими и экологическими свойствами, такими как: биосовместимость, биодеструкция (полное разложение под действием природных микроорганизмов), физиологическая активность при отсутствии токсичности (LD50 1600 мг/кг, 4 класс опасности), способность к селективному связыванию тяжелых металлов и органических соединений.

Целью нашего эксперимента является: изучение биологической активности раствора хитозана в аспарагиновой кислоте с добавлением ионов серебра. Данный препарат обладает уникальными химическими свойствами, основные из которых: является катионным

полиамином, обладает хелатными свойствами, связывает переходные металлы, и имеет возможность применения в медицине в качестве кровоостанавливающей композиции.

В ходе проведения исследования токсикологических свойств водных растворов хитозана в аспарагиновой кислоте были проведены серии экспериментов по определению острой токсичности с использованием в качестве тест-организма *Ceriodaphnia affinis* (ФР. 1.39.2007.03221). Анализируемые растворы: №1 Раствор 3% хитозана (ХТЗ) в 2% аспарагиновой кислоте (АК), №2 Раствор 3% ХТЗ в 2% АК + 0,01% Ag от ХТЗ, №3 Раствор 3% ХТЗ в 2% АК + 0,001% Ag от ХТЗ, №4 Раствор 3% ХТЗ в 2% АК + 0,01% Ag от раствора, №5. Раствор 3% ХТЗ в 2% АК + 0,001% Ag от раствора.

Основной целью эксперимента было определить острую токсичность или среднюю летальную концентрацию данных растворов ($ЛК_{50-48}$), кратность их разбавления, вызывающую гибель 50% тест-организмов за 48-часовую экспозицию. А так же проанализировать полученные данные и найти закономерность между изменением токсичности растворов и концентрации добавленного серебра, как вещества, обладающего высокой биологической активностью.

При обработке полученных данных, были рассчитаны среднесмертельные концентрации ($ЛК_{50-48}$) исследуемых растворов в мг/литр в экспериментах на *Ceriodaphnia affinis*. Определено, что минимальной токсичностью для цериодафний обладают растворы №1 (без серебра) $ЛК_{50-48}$ – 565 мг/л. Максимальной токсичностью обладают растворы №2 ($ЛК_{50-48}$ – 65 мг/л) и №3 ($ЛК_{50-48}$ – 18 мг/л). Добавление ионов серебра в раствор хитозана значительно увеличивает биологическую активность раствора. Однако, зависимость токсичности растворов от концентрации Ag выявить не удалось. Она не может быть описана полиномами 1 и 2 порядка, и, по-видимому, носит более сложный характер (вполне возможно волнообразный, синусоидальный), что требует дальнейшего объяснения и продолжения исследований.

УРОКИАЗНАЯ СИСТЕМА АКТИВИРУЕТ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ В НЕЙРОНАХ, ОПОСРЕДУЮЩИЕ ИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ И НАПРАВЛЕННЫЙ РОСТ АКСОНОВ

Рысенкова К.Д., Семина Е.В., Казарновский М.С., Рубина К.А., Ткачук В.А.
ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Karina_ry@mail.ru

Урокиазная система состоит из трёх компонентов: урокиназы (uPA), её рецептора uPAR и ингибиторов (PAI-1, 2). uPA превращает плазминоген в плазмин, который участвует в деградации белков внеклеточного матрикса, стимулируя клеточную подвижность за счёт ограниченного протеолиза матриксных белков, облегчая, тем самым, направленную миграцию клеток. Кроме того, урокиазная система стимулирует дифференцировку и пролиферацию гладкомышечных и эндотелиальных клеток при отрицательном ремоделировании сосудов. Связывание урокиназы с uPAR на клетках сосудов запускает каскады внутриклеточной сигнализации: активирует Jak/Stat сигнальный путь, Tyc2/PI3-K/Rho киназный путь, приводящие к изменениям клеточного фенотипа и реорганизации цитоскелета, а также p38 и p42/44 MAPK, стимулируя миграцию клеток. Известно, что одни и те же факторы роста могут осуществлять функцию навигационных рецепторов, как в сосудах, так и в нервах, более того, существуют данные о взаимной регуляции роста нервов и сосудов. Так, на конусе растущего аксона, как и на концевых клетках сосудистого отростка, экспрессируются uPA и uPAR. В экспериментах на мышах, дефицитных по генам uPA и uPAR, было показано снижение скорости восстановления седалищного нерва после его повреждения по сравнению с животными дикого типа. Целью данной работы было изучить участие uPAR в активации сигнальных путей, опосредующих направленный рост аксона и возможную роль uPAR в выживаемости нейронов. Двойное иммунофлуоресцентное окрашивание показало, что uPA и uPAR экспрессируются на конусе аксона. Блокирование uPAR нарушает траекторию роста аксона: стимулирует формирование нейритов и усиливает ветвление зрелых нейритов по сравнению с контролем. При этом активируются ГТФазы Rac1, Cdc42 и Rit1, регулирующие полимеризацию цитоскелета в аксоне, и увеличивается уровень фосфорилирования киназы FAK, ответственной за формирование фокальных адгезивных контактов. Длительное

блокирование uPAR вызывает снижение экспрессии белка нейрональной дифференцировки NeuN и уменьшает уровень фосфорилирования рецептора EGFR. При этом происходит подавление внутриклеточной сигнализации, поддерживающей выживаемость нейронов Erk1/2, Akt и p38 MAPK. Результаты, полученные в данной работе, дают основание предполагать, что uPAR не только регулирует направленный рост аксонов и их ветвление, но и опосредует сигнальные пути, поддерживающие дифференцировку нейронов и их выживание.

Работа выполнена за счёт гранта РНФ (проект №14-24-00086) с использованием оборудования, приобретённого за счёт средств Программы развития МГУ.

АККУМУЛИРОВАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ЧЕСНОКОМ ОЗИМЫМ В УСЛОВИЯХ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Середин Т.М., Кривенков Л.В., Агафонов А.Ф., Герасимова Л.И.

ФГБНУ ВНИИ селекции и семеноводства овощных культур, Одинцово, Россия

tima-seredin@rambler.ru

Целью наших исследований было: оценка сортовых особенностей чеснока озимого по способности накопления микроэлементов. Сорты и коллекционные образцы чеснока озимого, изучаемые нами, обладают различной способностью накапливать в своих органах определённые химические элементы. Изучаемые коллекционные образцы представлены десятью сортами селекции ВНИИССОК: Юбилейный Грибовский, Дубковский, Стрелец, Репликант, Сармат, Одинцовский Юбилейный, Демидов, Заокский, Богатырь, Поднебесный и семью образцами. На основании проведённых нами исследований по 23 элементам в экосистемах с обычным антропогенным воздействием установлено, что химические элементы могут накапливаться в вегетативных органах чеснока озимого в различных концентрациях. Изучаемые элементы по степени концентрации в растениях чеснока озимого размещаются, в среднем, в следующий ряд в порядке убывания: K>Mg>Ca>P>Na>Fe>Si>Zn>Mn>B>Cu>Al>Ni>Cd>Pb>I>As>Cr>Co>Sn>V>Li>Hg В основном сортообразцы выделяются по уровню накопления 1-5 элементов. Выделяются сорта Дубковский и Стрелец с низким уровнем накопления соответственно десяти и семи химических элементов и сорт Одинцовский Юбилейный с максимальным накоплением ценных для пищевого рациона элементов: калий, кальций, фосфор, железо, кремний, марганец, бор, алюминий, йод, ванадий. Уровни накопления химических элементов не обладают сортовой специфичностью у одиннадцати из 23 химических элементов: калий, магний, кальций, фосфор, натрий, железо, кремний, цинк, марганец, бор, никель. По остальным элементам сортовая специфика проявляется в большей степени, что выражается в смене рангов элементного ряда.

2-(1,5-ДИНИТРО-6-МЕТОКСИ-3,7-ДИАЗАБИЦИКЛО[3.3.1]НОН-3-ИЛ)-АМИНОКИСЛОТЫ КАК ОСНОВЫ ДЛЯ ДИЗАЙНА НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Сурова И.И., Атрошенко Ю.М., Иванова Е.В., Шаркова Е.В.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им.

Л.Н. Толстого, Тула, Россия

eledhwen_1@mail.ru

Одной из важных задач синтетической органической химии является разработка новых гетероциклических соединений с заданной биологической активностью для создания эффективных лекарственных препаратов. Интересным классом таких соединений являются 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонаны. Это определено тем, что диазабициклический каркас имеет структурный фрагмент природных биологически активных соединений, проявляющих нейротропные, антиаритмические, противоопухолевые свойства. В связи с этим, был проведен прогноз биологической активности синтезированных нами производных 2-(1,5-динитро-6-метокси-3,7-диазабицикло[3.3.1]нон-3-ил)-аминокислот с помощью компьютерного скрининга в системе PASS и оценены фармакокинетические параметры Липински.

Синтезированные нами соединения были проанализированы по всем пяти параметрам. Значение молекулярной массы бициклононанов колеблется в пределах 316 - 392. Показатели *Hd*, синтезированных нами соединений, удовлетворяют критериям Липински. Рассмотренные 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонаны также соответствуют условию концепции *leadlike* по числу нетерминальных вращающихся связей *RotB*. Значения дескрипторов *Ha* допустимо превышает заданные критерии, однако, это превышение не может существенно сказаться на понижении биодоступности данных препаратов.

Наиболее высока вероятность проявления активности, направленной на лечение фобических расстройств ($P_i = 0,812-0,519$) и противоэземная активность ($P_i = 0,717-0,667$), а также ингибирование действия ферментов группы А пепсина и хемозина ($P_i = 0,798-0,555$), гидролизующих белки, и фузарина, отвечающего за транспорт железа в клетках бактерий ($P_i = 0,763-0,640$). Так же возможно использование производных бета-аланина и особенно его эфира в качестве холиноблокирующие средства ($P_i = 0,600-0,507$). Они показывают достаточно высокую вероятность ингибирования проницаемости мембран, что делает их перспективным объектом для дальнейшего биологического тестирования.

В целом можно констатировать, что все синтезированные соединения соответствуют требованиям медицинской химии и являются перспективными объектами для изучения биологической активности.

ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА RAD51B В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ *PICHELIA PASTORIS*

Тимин Г.В.¹, Соболева Н.Г.², Шалгуев В.И.²

¹ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого;

²ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ
«Курчатовский институт», Санкт-Петербург, Россия

shalguyev@omrb.pnpi.spb.ru

Процесс гомологичной рекомбинации (ГР) обеспечивает геномную стабильность при появлении двунитевых разрывов ДНК в клетке. У эукариот белок RAD51 играет основную роль в этом процессе, так как RAD51 способен к образованию нуклеопротинового филамента, который катализирует гомологичное спаривание и обмен нитей ДНК. У *Homo sapiens* существует несколько паралогов белка RAD51, влияющих на процесс ГР, это: RAD51B, RAD51C, XRCC2, DMC1. Оказалось, что сходной с человеческой является система ГР у микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii*. Целью работы является получение рекомбинантного белка RAD51B из *C.reinhardtii* для дальнейшего биохимического исследования. Одним из подходов, позволяющим упростить и ускорить получение чистых эукариотических рекомбинантных белков является экспрессия рекомбинантных белков в дрожжах *Pichia pastoris*. С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) кодирующую часть гена RAD51B из *C.reinhardtii* клонировали по сайтам рестрикции EcoRI и XbaI в плазмидный вектор pRICAZalphaA (Invitrogen, Carlsbad, CA). Последовательность плазмидной ДНК pRICAZalphaA-RAD51B проанализировали секвенированием. Полученный вектор приготовили для встраивания в геном дрожжей, обработав его эндонуклеазой рестрикции PmeI. Далее этой плазмидой трансформировали клетки дрожжей *P.pastoris* GS115. Встраивание в геном дрожжей *P.pastoris* плазмидной ДНК, несущий ген RAD51B, подтверждали с помощью ПЦР анализа выросших дрожжевых колоний. Эксперименты по наработке целевого белка в дрожжах *P.pastoris* показали заметный уровень секреции рекомбинантного белка. При экспрессии в дрожжах *P.pastoris* белок RAD51B может претерпевать такие посттрансляционные модификации, как: процессинг сигнальной последовательности, измененный фолдинг, образование дисульфидных связей, а также O- и N-гликозилирование белка. Далее необходим анализ влияния посттрансляционных модификаций на биохимические свойства белка RAD51B.

СЕКРЕТОРНЫЕ БЕЛКИ МИКРОСПОРИДИЙ КАК ИНСТРУМЕНТ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА КЛЕТКУ НАСЕКОМОГО-ХОЗЯИНА

Тимофеев С.А.^{1,2}, Сендерский И.В.², Павлова О.А.², Долгих В.В.²

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,

²ФГБНУ ВНИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

ts-bio@ya.ru

Секретция белков в клетку хозяина является одним из основных механизмов прямого регулирующего воздействия внутриклеточных эукариотических паразитов на клетку и организм своего хозяина. У представителей таксонов внутриклеточных паразитов *Apicomplexa* и *Kinetoplastida* подобные белковые факторы патогенности являются предметом активного изучения в последние десятилетия. До недавнего времени практически полностью отсутствовали данные о подобных механизмах у многочисленной и всеветно распространенной группы внутриклеточных паразитов – микроспоридий. Данные родственные грибам организмы поражают представителей практически всех систематических групп от протистов до млекопитающих, на сегодняшний день описано 15 видов микроспоридий, способных заражать человека.

Ранее мы идентифицировали ряд потенциально секреторных белков микроспоридии *Paranosema locustae* и продемонстрировали, что некоторые из них действительно секреторируются паразитом в клетки хозяина – саранчи *Locusta migratoria*. В рамках данной работы был проведен анализ локализации данных молекул в структурах и компартментах клетки хозяина, а также произведена оценка их функциональной активности. Было показано, что функционально различные белковые факторы *P. locustae* накапливаются в цитоплазме, поступают в ядра или связываются с митохондриями клеток хозяина.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, грант № 15-04-04968 А.

ОЦЕНКА СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ТАКСОНАМИ ФЕСТУКОИДНЫХ ЗЛАКОВ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ ПО АМИНОКИСЛОТНОМУ СОСТАВУ СЕМЯН

Тихонюк В.А.

ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина; ФГБОУ ВПО Московский государственный гуманитарный университет им. М.А. Шолохова, Москва, Россия

chemosyst@list.ru

Исследование живых объектов должно быть многоплановым и учитывать все возможные свойства изучаемых организмов для более полного и точного объединения их в таксоны. Именно поэтому наиболее актуально переходить к интегративной систематике и исследовать, как анатомо-морфологические отличия, так генно-молекулярные и биохимические аспекты. Целью работы является попытка использования методов математической обработки данных для получения количественных критериев оценки сходства-различия, применимых для обработки результатов биохимических исследований (на примере аминокислотного состава целого семени).

В процессе исследований была разработана математическая модель, позволяющая оценить не только удаленность таксонов относительно друг друга (индекс ИУ), но и характер направления биохимической специализации таксона. Основой модели является выдвинутая В.Ф.Семиховым идея аминокислотного состава гипотетического предка злаков и сравнение с аминокислотным составом целого семени современных представителей. Суть модели заключается в использовании 15-мерного (так как учитывалось 15 аминокислот) гильбертова пространства для расчета расстояния и углов между полученными векторами. В качестве материала для исследования были выбраны данные по аминокислотному составу целого семени из авторской базы данных «Белки семян» (рег.№0229804034). Применение данной модели к системе злаков Н.Н.Цвелева 1986 (на основе исследований 25 триб) показало, что, например, триба *Arundineae* разделена на три обособленные группы, две из которых в современной системе отнесены к самостоятельным трибам (*Triodieae*, *Plectrachne*, *Eriachneae*)

или включены в другие трибы (*Danthonieae*, *Airinae*). Также результатами математической обработки подтвердилось выделение из трибы *Cynodontae* (по системе Н.Н.Цвелева) рода *Eleusine* в отдельную трибу *Echinolaena*, перенесение рода *Sporobolus* в трибу *Zoysieae*, рода *Buchloe* в трибу *Sesleria*, переименование рода *Uniola* в *Chasmanthium* и перенесение его в трибу *Centotheseae*. По результатам нашей обработки триба *Zoysieae* представлена двумя различными группами (основные представители групп *Zoysia* и *Tragus*), но в литературе не было найдено подтверждение разделения трибы. Такие биохимические различия означают, что, возможно, данные таксоны требуют дополнительного исследования.

Предложенный метод оценки характера направленности биохимической специализации при помощи метода многомерного пространства позволил выявить, что хиатусы, полученные при нанесении результатов на общую диаграмму, скорее всего, вызваны принадлежностью групп к различным трибам.

ДВУХДОМЕННЫЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЛАККАЗЫ ИЗ ШТАММОВ *STREPTOMYCES VIRIDochROMOGENES* AC-629 И *STREPTOMYCES LIVIDANS* AC-1709: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Трубицина Л.И.^{1,2}, Лисов А.В.¹, Леонтьевский А.А.^{1,2}

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

²ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт,
Пущино, Россия

lyubov_yurevich@mail.ru

Двухдоменные лакказы – недавно описанная группа полифенолоксидаз бактериального происхождения. В настоящее время охарактеризованы только четыре двухдоменные лакказы. Небольшое количество исследованных представителей данной группы наряду с отсутствием исчерпывающей информации об охарактеризованных белках создаёт необходимость дальнейшего исследования новых ферментов - представителей группы двухдоменных лакказ.

Ранее из штаммов *Streptomyces lividans* AC-1709 и *Streptomyces viridochromogenes* AC-629 нами были выделены два гена, кодирующих двухдоменные лакказы, получены рекомбинантные продуценты и препараты этих ферментов. Были исследованы их оптимумы рН, термостабильность, а также влияние ингибиторов на активность ферментов. Целью данной работы выступает дальнейшее исследование физико-химических свойств ферментов, а также определение кинетических характеристик.

Очищенные лакказы проявляли активность в форме гомотримеров. Температурные оптимумы для лакказ из штаммов AC-629 и AC-1709 составили 90°C и 65°C соответственно. В отношении стабильности, обе лакказы были более стабильны при щелочных значениях рН. Лакказа из штамма AC-629 сохраняла 76% и 82% начальной активности при инкубировании в течение 6 суток при рН 9,0 и 11,0, соответственно. При рН 3,0 остаточная активность (о.а.) была менее 10%. Лакказа из штамма AC-1709 сохраняла 53% и 82% начальной активности при инкубировании в течение 6 суток при рН 7,0 и 11,0, соответственно. При рН 3,0 о. а. не наблюдалось. Исследовано влияние ионов металлов на активность лакказ. Такие ионы металлов, как Mg²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, Zn²⁺, в концентрации 1мМ оказывали слабый ингибирующий эффект на активность лакказ (о. а. составляла от 91% до 98% в зависимости от иона металла и фермента). Ионы Fe³⁺ (1 мМ) обладали сильным ингибирующим эффектом (о. а. составляла 60% и 58% для белков из AC-629 и AC-1709 штаммов, соответственно). Ионы Cu²⁺ (1мМ) в отношении активности лакказы из штамма AC-1709 оказывали слабый стимулирующий (о. а. 111%), а в отношении лакказы из штамма AC-629 – сильный ингибирующий (о. а. 59%) эффект. Кинетические характеристики были исследованы в отношении трёх субстратов: АБТС (2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин сульфоновая кислота)), ФЦ (ферроцианид) и 2,6-ДМФ (2,6-диметоксифенол). Величины K_m и k_{kat} для лакказы из штамма AC-629 составили 0,3 мМ и 8 с⁻¹, 0,38 мМ и 34,4 с⁻¹ и 4,5 мМ и 1,9 с⁻¹ для АБТС, ФЦ и 2,6-ДМФ, соответственно. Величины K_m и k_{kat} для лакказы из штамма AC-1709 составили 0,52 мМ и 11,2 с⁻¹, 1 мМ и 27,8 с⁻¹ и 3,73 мМ и 0,85 с⁻¹ для АБТС, ФЦ и 2,6-ДМФ, соответственно.

РОЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОЙ ЦИРКУЛЯЦИИ ГЛУТАТИОНА В ЗАЩИТЕ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО СУПЕРОКСИДА

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

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

В аэробно растущих культурах *E.coli* осуществляется постоянная циркуляция глутатиона (GSH) между клетками и средой, при этом концентрация экстраклеточного GSH является результатом динамического равновесия между выходом и входом GSH в клетки с участием γ -глутамилтранспептидазы (GGT). Выход GSH изменяется под действием факторов, влияющих на уровень $\Delta\mu\text{H}^+$ и АТФ, и прекращается при ингибировании дыхания. С другой стороны, экспоненциально растущие аэробные клетки *E.coli* продуцируют постоянный поток супероксида (СО) в периплазму как результат случайного аутоокисления дигидроменахинона в электрон-транспортной цепи. Целью исследования являлась проверка возможности участия трансмембранной циркуляции GSH в защите периплазмы от эндогенного и экзогенного СО у *E.coli*.

Бактерии выращивали в нелимитируемых условиях и при голодании по источнику фосфата. СО в среде культивирования производили субстрат-ферментной парой ксантин-ксантинооксидаза. При этом в результате спонтанной дисмутации часть супероксида превращается в H_2O_2 . Результаты исследований показали, что воздействие активных форм кислорода (АФК) на экспоненциально растущую или голодающую по фосфату культуру *E.coli* стимулирует обратимый выход GSH из цитоплазмы в среду. Этот выход GSH предотвращался при добавлении супероксиддисмутазы (SOD) и не изменялся при действии экзогенной каталазы, что свидетельствует о том, что из двух АФК именно СО является фактором, провоцирующим выход GSH. В мутантах *E.coli* с отсутствующей переплазматической супероксиддисмутазой (SodC), наблюдался более длительный выход GSH, чем у *E.coli* дикого типа, в то время как у мутанта по GGT полностью предотвращался вход GSH из среды в цитоплазму. В отличие от дикого типа, мутанты *E.coli*, лишённые GGT и глутатионредуктазы (GOR), накапливали окисленный GSH в среде после обработки экзогенным СО. При действии экстраклеточного СО, у мутантов по *sodC*, *ggt* и особенно в штамме с нарушенным синтезом глутатиона (*gshA*) наблюдалось более интенсивное и продолжительное ингибирование роста, по сравнению с клетками дикого типа. Добавление экзогенного GSH сокращало фазу ингибирования роста, однако, присутствие эндогенного и экзогенного GSH в культуре, обработанной ксантин-ксантинооксидазой, повышало ее чувствительность к последующему пероксидному стрессу. Таким образом, полученные результаты показывают, что трансмембранная циркуляция GSH может быть вовлечена в механизм защиты *E.coli* от экзогенных АФК, однако при этом может наблюдаться повышенная восприимчивость к последующим стрессам.

Исследования поддержаны грантами программы МКБ и РФФИ №13-04-00706, 13-04-96039.

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОНАТОВ 3d-МЕТАЛЛОВ НА КОМПЛЕМЕНТФИКСИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ G В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЫШЕЙ

Усачев С.А., Князева О.А.

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

nuggetus@mail.ru

Инициация активации комплемента по классическому пути начинается с присоединения к IgG C1q, что играет ключевую роль для последующего каскада биохимических реакций. Поэтому комплементфиксирующая способность IgG может служить одним из маркеров в оценке состояния гуморального иммунитета. Все это и обусловило цель настоящей работы - изучение влияния глюконатов 3d-металлов (GIMe) на образование комплексов C1q-IgG.

Исследование проводилось на беспородных белых мышах массой 20-30 г с использованием модели иммунодефицита, который создавался путем однократного введения циклофосфана в

дозе 50 мг/кг. Через 24 часа вводились GMe (Mn, Fe, Co, Cu, Zn) - ежедневно в течение 14 дней в дозе 1/10 LD50 в сутки. Группы сравнения получали дистиллированную воду, иммуностимулирующий препарат «Ликопид®» и глюконат Ca; контролем служили интактные мыши. На 16-е сутки осуществлялся забор крови и определялся уровень комплексов C1q-IgG методом ИФА с помощью специфических моноклональных антител мыши. Статистическая обработка результатов проводилась в программе STATISTICA 8.0.

Было показано, что под действием циклофосфана количество комплексов C1q-IgG (по сравнению с интактными) возрастало на 13%. Глюконат кальция не оказывал на комплексообразование никакого влияния, ликопид - снижал на 11,5%. В то же время, у мышей, получавших GMe, наблюдалось статистически значимое снижение уровня комплексов C1q-IgG по сравнению с не лечеными животными: под действием GIMn на 12,2%, GIZn – 22,9%, GICu – 26,7%, GIFE – 25,8%, GICo – 16,34%.

Таким образом, повышение содержания C1q-IgG комплексов под действием цитостатика и снижение после терапии показывает, что механизм защиты от повреждающего действия комплексов, связан, по всей видимости, с взаимодействием GMe с Fc-фрагментами IgG. Остающаяся неизменной концентрация комплексов у мышей, получавших глюконат кальция, свидетельствует о том, что глюконовая кислота не оказывает влияния на комплексообразование, а основным действующим веществом являются сами металлы переменной валентности. По какому именно механизму осуществляется влияние GMe на комплементфиксирующую функцию IgG, предстоит выяснить в дальнейших исследованиях.

ЭФФЕКТ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ СЫВОРОТКИ МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

Фатеева С.Е., Курдюмова И.В., Леонова Л.Е.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

fateewasveta@yandex.ru

Биологически активные компоненты молока столь многочисленны и многофункциональны, что их более детальное изучение представляет большое значение в изучении формирования иммунитета новорожденных, что открывает перспективы в создании лекарственных средств, необходимых для профилактики и терапии новорожденных с первых дней жизни.

Ранее в нашей группе были проведены исследования по изучению молока человека, в котором низкомолекулярные антимикробные пептиды – дефенсины были выявлены во фракциях с низкой электрофоретической подвижностью, вместе с лактоферрином и миелопероксидазой, что может свидетельствовать о том, что антимикробные белки и пептиды в молоке человека находятся в комплексах.

Исходя из этого, была сформулирована цель нашей работы: изучение антимикробных белков и пептидов молока человека и выявление их способности к комплексообразованию с другими белками.

Для достижения поставленной цели молоко человека было подвергнуто центрифугированию при 20000g с целью получения нативной сыворотки. А также была проведена кислотная экстракция белков молока человека двумя способами: 1) белки экстрагировали с помощью повышения pH раствора 5%-ной уксусной кислотой до pH 3, 2) белки экстрагировали повышением pH раствора с помощью соляной кислоты до pH 3.

Нативную сыворотку и кислотные экстракты молока подвергали ультрафильтрации на мембранах «Milipore» с диаметром пор 50 кДа, 30 кДа, 10 кДа, 1 кДа.

Все полученные после ультрафильтрации фракции были проанализированы. Методом аналитического электрофореза в кислой среде в присутствии мочевины была определена электрофоретическая подвижность полученных фракций. Методом аналитического электрофореза в денатурирующих условиях в присутствии додецилсульфата натрия была определена молекулярная масса полученных фракций. Антимикробную активность определяли методом радиальной диффузии в агарозном геле против тестовых штаммов бактерий *L.monocytogenes* и *E.coli*.

Было показано, что экстракт молока с уксусной кислотой обладает большей антимикробной активностью по сравнению с нативной сывороткой молока. Около 80% лизоцима содержится во фракциях более 50 кДа, остальные 20% лизоцима содержатся во фракциях от 10 до 30 кДа, во фракциях от 30 до 50 кДа и в экстрактах, и в нативной сыворотке молока. Методом дот-иммуноферментного анализа во фракциях экстракта молока с уксусной кислотой от 10 до 30 кДа выявлены дефенсины и предположительно лактоферрицин. Полученные данные свидетельствуют о том, что антимикробные белки и пептиды в молоке существуют в составе довольно прочных комплексов.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ БЕЛКОВ NUDT12 И NUDT13 В РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ NAD В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Харченко В.Д.¹, Никифоров А.А.^{1,2}, Куликова В.А.¹

¹ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого;

²ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

vlada_12@mail.ru

Никотинамид аденин динуклеотид (NAD) является участником важнейших метаболических и сигнальных процессов в клетках человека. Динуклеотид выполняет функцию кофактора в окислительно-восстановительных реакциях. Помимо этого, NAD выступает в роли субстрата для нескольких семейств регуляторных ферментов, катализирующих деацетилирование и АДФ-рибозилирование белков. Данные сигнальные процессы принимают участие в регуляции экспрессии генов, прохождения по клеточному циклу, репарации ДНК и апоптоза. Регуляция NAD-зависимых метаболических и сигнальных процессов зависит от способности клетки поддерживать определенный уровень данного динуклеотида. Основным механизмом контроля количества NAD в клетках человека является его биосинтез. В клетках бактерий и простейших эукариот, помимо биосинтеза, также описан другой механизм регуляции уровня динуклеотида путем его расщепления до мононуклеотидов NMN и AMP пирофосфатазами семейства Nudix YjaD и NdxA. Белки NUDT12 и NUDT13 характеризуются наибольшей гомологией к Nudix пирофосфатазам YjaD и NdxA. Было показано, что NUDT12 эффективно гидролизует NADH, NADPH и NAD⁺ *in vitro*. О ферментативной активности и возможной функции белка NUDT13 на данный момент ничего не известно.

В данной работе мы проверяем гипотезу о том, что белки NUDT12 и NUDT13 могут регулировать уровень NAD в клетках человека.

Нами были созданы векторы для экспрессии His-tag-слитых белков NUDT12 и NUDT13 в бактериальных клетках. Далее была проведена трансформация клеток *E. coli* полученными векторами и подобраны условия для эффективной сверхэкспрессии рекомбинантных белков. Уровень экспрессии и размер белков оценивали при помощи разделения в денатурирующем полиакриламидном геле. Далее белки 6xHis-NUDT12 и 6xHis-NUDT13 будут выделены при помощи афинной хроматографии. Нами будет изучена способность белка NUDT13 расщеплять NAD до мононуклеотидов NMN и AMP *in vitro*. В качестве положительного контроля будет использован белок NUDT12, для которого данная активность уже установлена.

Также нами были созданы векторы для экспрессии FLAG-слитых белков NUDT12 и NUDT13 в клетках человека. Белки FLAG-NUDT12 и FLAG-NUDT13 были сверхэкспрессированы в клетках HEK293 после их временной трансфекции соответствующими векторами. Далее мы оценивали уровень экспрессии и размер сверхэкспрессированных белков при помощи метода иммуноблоттинга. После этого нами будет проверена способность белков NUDT12 и NUDT13 регулировать уровень NAD в клетках человека. Для этого мы будем оценивать уровень динуклеотида в экстрактах клеток HEK293 до и после сверхэкспрессии изучаемых белков.

ГИПЕРПРОДУКЦИЯ ПРОТЕИНАЗЫ HtrA ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* НА ОСНОВЕ ВЕКТОРА PDG148

Чернова Л.С., Гайнутдинова З.Р., Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р.
ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

lsch-888@live.com

HtrA (High temperature requirement A) белки принадлежат семейству сериновых протеаз и встречаются у чрезвычайно большого разнообразия видов от бактерий до человека. Основной функцией представителей семейства HtrA является качественный белковый контроль и удаление денатурированных и несфолдированных белков. HtrA протеазы разрушают поврежденные белки, и таким образом контролируют качество белков и защищают клетки от последствий различных стрессов. Они также распознают специфические белковые субстраты и таким образом участвуют в регуляции многих путей. У многих патогенных штаммах бактерий с пониженной активностью HtrA, отмечается уменьшение или полная потеря вирулентности. Это связано с повышенной уязвимостью бактерий к стрессам, и соответственно, к уменьшению секреции факторов вирулентности. Была поставлена цель очистить белок HtrA из *Bacillus subtilis* 168, чтобы оценить его физиологические свойства.

Для гиперпродукции рекомбинантного белка HtrA, несущего Strep-tag на C-конце белка, ген *htrA* клонировали в экспрессионный вектор pDG148. Фрагмент ДНК, несущий ген *htrA*, получали с помощью ПЦР с геномной ДНК *B. subtilis* 168. Полученный продукт амплификации и вектор pDG148 рестрицировали по сайтам HindIII и лигировали, после чего трансформировали лигазной смесью клетки *E. coli*. Рекомбинантные клетки высевали на селективной среде с ампициллином, а также проверяли наличие вставки методом ПЦР. Таким образом, была получена плазмида pDG148-HtrA, обеспечивающая гиперпродукцию рекомбинантного белка HtrA-ST в клетках *E. coli*.

Очистку рекомбинантного белка HtrA-ST со Strep-tag меткой проводили на Strep-tactin сефарозе. Клеточный экстракт культуры рекомбинантного штамма *E. coli* BL21 pDG148-HtrA наносили на колонку со Strep-tactin сефарозой и элюировали буфером, содержащим дестиобиотин в концентрации 2,5 мМ. Фракции элюции с максимальным содержанием белка диализовали и анализировали с помощью SDS-ПААГ электрофореза. Таким образом, было получено 5 мг белка HtrA-ST в электрофоретически гомогенном состоянии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_а.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ, КАТИОНОЗАВИСИМОСТИ И БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДОГЛИКАНГИДРОЛАЗЫ БАКТЕРИОФАГА T5

**Шаврина М.С.^{1,2}, Молочков Н.В.³, Зимин А.А.⁴, Чернышев С.В.²,
Микулинская Г.В.^{1,2}**

¹ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт, ²Филиал
Института биоорганической химии РАН, ³ФГБУН Институт теоретической и
экспериментальной биофизики РАН; ⁴ФГБУН Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов РАН, Пущино, Россия

maria_shavrina@inbox.ru

Пептидогликангидролазы бактериофагов привлекают большое внимание ввиду возможности применения их «извне» в качестве бактерицидных агентов. В силу своей специфичности к субстрату, наличия определенного, часто весьма узкого, спектра антибактериальной активности, низкой иммуногенности, стабильности они могут рассматриваться в качестве возможной альтернативы антибиотикам.

Нами были исследованы некоторые свойства эндолизина бактериофага T5 (Endo T5) – цинксодержащей пептидазы, специфично гидролизующей пептидогликан грамотрицательных бактерий.

Анализ температурной чувствительности Endo T5 в диапазоне 40-90°C показал, что белок является термостабильным, так как сохраняет более 65% активности после 30-минутного

прогрева при 90°C. Контроль изменений вторичной структуры белка, проведенный методом кругового дихроизма в области дальнего ультрафиолета, показал постепенное уменьшение доли α -спиральных участков при нагреве с 21.5 до 8.1%. Последующее охлаждение образцов обеспечивало практически полную ренатурацию вторичной структуры Endo T5.

Эксперименты с комплексообразователями с различной избирательностью к катионам показали, что хелаторы широкого спектра действия (EDTA, EGTA) и хелатор с высоким сродством к кальцию (ВАРТА) в концентрации 1 мМ полностью ингибируют фермент. Интересно, что специфичный к ионам цинка 1,10-фенантролин не являлся ингибитором, как и ингибитор сериновых протеаз PMSF, взятый в качестве контроля. Очевидно, они не влияют на активный центр Endo T5.

Двухвалентные катионы Ca^{2+} и Mg^{2+} в концентрации 0.05 мМ активировали фермент до 121% относительно контроля; Mn^{2+} в качестве активатора себя не проявил. Экзогенный Zn^{2+} являлся эффективным ингибитором уже в концентрации 0.2 мМ. Предполагается, что механизм связывания $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$ отличен от механизма связывания цинка в активном центре фермента.

Мы исследовали бактериолитическое действие Endo T5 на живые клетки грамотрицательных бактерий – *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* (РАО1) – в сочетании с агентами, увеличивающими проницаемость наружной мембраны: пептидным антибиотиком полимиксином В, гидроксимином (Трис), катионным пептидом полилизин и катионным детергентом хлоргексидином. Подсчет выживших колоний показал, что разница с контролем (содержащим агент без фермента) составляла от 5 до 7 порядков. Очевидно, пермеабиллизация наружной мембраны приводит к гидролизу пептидогликана Endo T5 и осмотическому лизису бактериальных клеток. Работа была частично поддержана грантом РФФИ №13-04-00991-а.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИК ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ФЕНАЗИНОВЫХ МЕТАБОЛИТОВ ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ И КЛЕТОК *PSEUDOMONAS AURANTIACA*

Шапиро М.А.

Белорусский государственный университет; ГНУ Институт биоорганической химии
Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

shapiro.mihail.anatolevich@gmail.com

Актуальность. Феназиновые антибиотики являются вторичными метаболитами микробного происхождения, синтез которых характерен для многих родов бактерий, в том числе и *Pseudomonas*. Характерной чертой большинства штаммов-продуцентов является способность синтезировать несколько типов феназиновых антибиотиков, при этом их набор всегда видоспецифичен. Несмотря на высокую биологическую активность и практическую значимость феназиновых антибиотиков, этот класс соединений в настоящее время исследован еще недостаточно: до конца не изучены классы синтезируемых бактериями феназиновых антибиотиков, не получены высокоактивные штаммы-продуценты данных соединений, детально не описаны механизмы действия феназинов на клеточном, организменном и экосистемном уровнях. В связи с этим актуальными являются работы по разработке быстрых и эффективных методов выделения феназиновых метаболитов из культуральной среды и клеток бактерий. В данной работе проведены исследования возможности использования различных видов обращеннофазовой твердофазной экстракции для выделения феназинов из культуральных сред и клеток бактерий продуцентов.

Цель: разработать и оптимизировать методы экстракции феназиновых метаболитов из культуральной среды и клеток бактерий *Pseudomonas aurantiaca*.

Материалы и методы. В работе использовали 10 штаммов бактерий вида *Pseudomonas aurantiaca*, отличающихся по биосинтезу феназинов. Экстракция проводилась на ТФЭ-колонках фирмы Agilent, в качестве сорбентов использовались фенил-силикагель и С18(ЕС) – силикагель. Содержание феназинов определяли спектрофотометрически по характерным пикам поглощения (375 нм). Полученные образцы анализировали с помощью высокоэффективного хроматографа Agilent 1290 с тандемным квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором.

Результаты. Разработаны методики твердофазной экстракции с использованием обращенно-фазовых сорбентов феназиновых метаболитов из культуральной среды и клеток бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. С использованием ВЭЖХ-МС анализа проведен качественный и сравнительный анализ состава феназиновой фракции различных бактериальных штаммов. Полученные результаты могут служить основой для метаболической инженерии бактерий рода *Pseudomonas*.

Выводы:

1) Разработаны методики выделения феназиновых метаболитов из культуральной среды и клеток бактерий рода *Pseudomonas*.

2) Проведен анализ качественного состава феназиновых метаболитов, а также различий в количественном содержании отдельных производных феназина в различных штаммах бактерий вида *Pseudomonas aurantiaca*.

ХИТИНРЕДУЦИРУЮЩИЕ ФЕРМЕНТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ БАРЕНЦЕВА МОРЯ УЧАСТВУЮЩИХ В БИОДЕГРАДАЦИИ ТКАНЕЙ РАКООБРАЗНЫХ

Шумская Н.В., Мухин В.А., Новиков В.Ю.

ФГБУН Полярный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н.М. Книповича, Мурманск, Россия

shumskaya@pinro.ru

Хитин является химически стойким соединением, нерастворимым в водных растворах, что может обуславливать его длительное присутствие в природной среде. Несмотря на это он не накапливается в природных экосистемах, а подвергается разрушению.

Несомненный интерес представляет поиск новых высокоактивных штаммов хитиноредуцирующих бактерий и исследование их ферментных систем. Обладая уникальными ферментными системами, они являются основными регуляторами трансформации полисахаридов в том числе и хитина.

В рамках проводимых исследований из природных субстратов выделили 4 культуры микроорганизмов, обладающих способностью к активному росту на питательных средах, содержащих хитин. Так для микроорганизмов рода *Rhodococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* отмечена максимальная хитиноредуцирующая активность в отличие от микроорганизмов рода *Acinetobacter sp.*

По результатам планарного ПААГ-электрофореза в культуральной жидкости исследуемых культур выделены фракции с низкой и высокой молекулярной массой, диапазон которых для выделенных микроорганизмов колеблется в широких пределах.

Важно отметить, что для всех исследуемых микроорганизмов выявлена белковая фракция с ММ 47 кД, в то время как фракция с ММ 69 кД отмечена у микроорганизмов рода *Rhodococcus sp.*, *Bacillus sp.* и *Pseudomonas sp.* В свою очередь, для рода *Acinetobacter sp.* помимо белковой фракции с ММ 47 кД выделяется фракция с ММ 60 кД, которая также присутствует в белковом комплексе бактерий рода *Pseudomonas sp.*

По нашим данным, эндохитиназная активность фермента культуры микроорганизмов рода *Rhodococcus sp.* выше по сравнению с таковой культур микроорганизмов рода *Bacillus sp.* и *Acinetobacter sp.* и составляет 13, 4 и 3 % соответственно. Эндохитиназную активность ферментов в культуральной жидкости культуры микроорганизмов рода *Pseudomonas sp.* определить не удалось. Экзохитиназная активность фермента культур микроорганизмов рода *Bacillus sp.* и *Pseudomonas sp.* выше (820,6 и 643,9 АцГлА×ч⁻¹×г⁻¹ соответственно), чем у фермента культур микроорганизмов рода *Rhodococcus sp.* и *Acinetobacter sp.* (278,9 и 131,9 АцГлА×ч⁻¹×г⁻¹ соответственно).

Анализируя полученные данные можно сказать, что совместное наличие фракций с ММ 47 кД и 69 кД, характерно для микроорганизмов рода *Rhodococcus sp.*, *Bacillus sp.* и *Pseudomonas sp.*, хитиноредуцирующая активность которых выше по сравнению с микроорганизмами рода *Acinetobacter sp.*, у которого обнаружена фракция с ММ 60 кД. На основании полученных данных можно предположить, что белковые фракции с ММ 67 кД и 60 кД относятся к хитиназам с разным механизмом действия.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДА ЦИНАРОЗИДА НА МОДЕЛИ МИТОХОНДРИЙ

**Эргашев Н.А.¹, Комилов Э.Дж.¹, Ташбекова М.Х.¹, Асраров М.И.¹, Эшбакова К.А.²,
Комилов. Б.Дж.²**

¹Институт биоорганической химии им. А.С. Садыкова АН РУз; ²Институт химии
растительных веществ им. академика С.Ю. Юнусова АН РУз, Ташкент, Узбекистан

nurali7973@mail.ru

Флавоноид цинарозид (лютеолин-7-глюкозид) выделен из надземной части ферулы изменчивой (*Ferula varia*, сем. *Apiaceae*), которая широко распространена на территории Средней Азии. Известно, что цинарозид обладает гипозотемическим действием, однако мембраноактивные свойства данного флавоноида не исследованы.

Целью настоящей работы является изучение влияния цинарозида на перекисное окисление липидов (ПОЛ) в митохондриях печени крыс.

Митохондрии выделяли из печени крыс-самцов весом 200-220 гр. методом дифференциального центрифугирования. В *in vitro* экспериментах изучали ПОЛ в мембранах митохондрий в системы Fe^{2+} /аскорбата. Известно, что индуцирование системой Fe^{2+} /аскорбат ПОЛ вызывает изменение барьерных функций мембран митохондрий и приводит их набухание, которое можно регистрировать фотометрическим методом.

В наших экспериментах флавоноид цинарозид дозозависимо ингибировал Fe^{2+} /аскорбат-индуцированную активацию ПОЛ. Например, при добавлении в среду инкубации 4 мкМ цинарозида, наблюдалось ингибирование Fe^{2+} /аскорбат-индуцированное ПОЛ на 12%, а при концентрации 12 мкМ - на 49%. В этих условиях цинарозид вызывал полное ингибирование ПОЛ в концентрации 20 мкМ. Полученные данные подтверждают, что цинарозид обладает антиоксидантными свойствами. Возможно, что исследуемый флавоноид предупреждает накопление продуктов ПОЛ в мембранах и, таким образом, стабилизирует мембраны митохондрий печени крыс.

Таким образом, цинарозид эффективно ингибирует Fe^{2+} /аскорбат- индуцированное набухание митохондрий с IC_{50} , равным $5,04 \pm 0,1$ мкМ, что свидетельствует о наличии у цинарозида антиоксидантных свойств.

СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»

DESIGN AND CONSTRUCTION OF THE E.COLI PLASMID CONTAINING THE FULL-LENGTH COPY OF ADENOVIRUS TYPE 6 GENOME FOR SUBSEQUENT USE IN CANCER THERAPY

Demidova E.V.¹, Tarasova M.V.¹, Kochneva G.V.², Chumakov P.V.³, Netesov S.V.¹

¹Novosibirsk State University, Novosibirsk, ²FSRI State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, Koltsovo, Novosibirsk Region, ³Institute of Molecular Biology named after V.A. Engelhardt, Moscow, Russia

alfaelena@mail.ru

According to Federal State Statistics Service data, ~480,000 new cancer cases per year are registered in Russia and this number is increasing year by year. Oncolytic viral-based gene therapy is one of the new approaches for the cancer treatment. Human adenovirus serotype 6 (Ad6) is started to be used for oncolytic therapy and it has a good therapeutical potential among different adenoviral serotypes because of very rare immunity to this serotype.

The purpose of this work is to design and construct a plasmid that contains a complete Ad6 genome for further construction of the modified Ad6 strains with more efficient oncolytic properties compared to the wild type strain.

To achieve this purpose the initial plasmid named pBRAd was constructed. It is a derivative of pBR322 plasmid with AsiSI site inserted between EcoRI and HindIII. AsiSI is absent in the Ad6 genome thus allowing to cut the full adenovirus genome from the full-genome plasmid.

The following plasmid named pAdEnds was constructed by inserting the terminal parts of the Ad6 genome (856 and 951 bp for the left and right end respectively) into the pBRAd. The external ends of the fragments were flanked with AsiSI sites while internal ones were flanked by asymmetric GsaI site preventing homodimer formation during the ligation of fragments to each other. In order to obtain full-genome plasmid the homologous recombination between pAdEnds and Ad6 genome DNA was used. To perform this procedure the pAdEnds plasmid DNA was digested by PstI which is located near the border of terminal fragments and co-transformed with full-length Ad6 DNA to BJ5183 *E.coli* cells. Two types of clones was obtained after homologous recombination (big and small ones). By restriction analysis of DNA isolated from the smallest clones it was shown that the plasmids contained Ad6 full-length genome. The full-genome plasmid named pAd6 was retransformed into the DH10B *E.coli* strain to achieve greater DNA yield.

In order to approve infectivity of this pAd6-derived Ad6 genome the lipofectamine-based transfection of cells Ad293 were performed. In 6 days after transfection a typical cytopathic effect was observed, which testified the suitability of this construction for further genetic engineering operations.

The pAd6 plasmid DNA will be used for preparation of the different modified adenovirus strains with oncolytic properties for testing in preclinical trials.

INVESTIGATION OF THE FORMATION OF SILVER NANOPARTICLES BY STREPTOMYCES SP. BDU-C25

Gasanova S.A., Guliyeva S.M., Shahgeldieva N.A., Ganbarov Kh.G.,

Eyvazova Q.I., Aghamaliyev Z.A., Ramazanov M.A

Baku State University, Azerbaijan

sevda-gasanova66@mail.ru

Currently in literature are reported about methods for the production of silver nanoparticles. These methods can be effectively divided into three main groups: 1) physical methods of synthesis, which are based on the formation of nanoparticles by the means of direct physical action on the given substance; 2) chemical synthesis methods, in which the formation of nanoparticles occurs using chemical reagents; 3) biotechnological methods, based on the reduction of compounds of metals by ferments contained in living organisms, or produced by them during their life cycle. The aim of our research was the investigation of the formation of silver nanoparticles by *Streptomyces* sp. BDU-C25. The actinomycete was grown aerobically in (250 ml Erlenmeyer flasks containing) 100 ml liquid

medium Gause. Liquid medium was inoculated with mycelia and incubated at 28°C in thermostat for 7-14 days. After incubation, cell free supernatant (CFS) was separated by filtration through whatman filter paper №1 and was used further for nanoparticles synthesis. For the synthesis of silver nanoparticles the 50 ml of CFS was mixed with 50 ml of 1 mM AgNO₃ and incubated at 28°C in dark condition. In this process silver nanoparticles were produced through reduction of the silver ions to metallic silver. Control without the AgNO₃ was also kept at the same condition as described above. The formation of silver nanoparticles inoculated media of actinomycete was monitored by changing color. The appearance of a yellowish-brown color in solution containing the CFS indicates of the formation of silver nanoparticles in the reaction mixture. The reduction of silver ions was monitored by measuring the UV-Visible spectra of the solution by periodic sampling of aliquots (2 mL) of the aqueous component. Was observed characteristic absorption peak for silver nanoparticles in 400-430 nm. For the study morphological characterization and size of silver nanoparticles we used the scanning electron microscope. The produced specific particles are polydisperse and spherical in the size range 40-60 nm. Results of rengen-phase analysis showed the particles belonging to the silver nanoparticles. Thus, was shown the ability of culture *Streptomyces* sp. BDU-C25 synthesise silver nanoparticles.

NEW LIPASE PRODUCING BACILLI STRAINS ISOLATED FROM GEOTHERMAL SPRINGS OF ARMENIA AND NAGORNO-KARABAKH

Shahinyan G.S.

Department of Microbiology, Plants and Microbes Biotechnology, Faculty of Biology,
Yerevan State University, Yerevan, Armenia

grigorshah@gmail.com

Thermophilic microorganisms thriving in extreme environments are a great alternative source of thermostable enzymes - thermozyms. One of the most important groups of thermozyms as industrial enzymes are thermostable lipases, which have found applications in food, dairy, detergent, and pharmaceutical industries. Nowadays, the study and characterization of new lipase producing thermophilic bacteria are important tasks of modern microbial ecology and biotechnology.

In quest for a new and prospective extracellular thermostable lipase producers, 9 lipase active bacilli were isolated from Akhurik, Tatev (Armenia) and Karvachar (Nagorno-Karabakh) geothermal springs. Based on phenotypic characteristics and 16S rRNA gene sequencing isolated bacilli were identified as species of *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Geobacillus* and *Anoxybacillus* genera.

The optimal conditions for lipase production by the strains was found to be pH 6-7, 65°C for *Bacillus*, *Brevibacillus* and *Geobacillus* strain, pH 9-10 and 55°C for *Anoxybacillus* strains. The preliminary characterization of the crude lipase of the strains was carried out in different pH (5-11) and temperatures (25°C-75°C). Lipolytic activity was determined spectrophotometrically using p-nitrophenyl palmitate as substrate. The highest lipase activity (0.8-0.9 U/ml) of *Bacillus* and *Brevibacillus* strains was observed at pH 6-7 and 55°C temperature. *Geobacillus* sp. strains showed high lipolytic activity (1.5-3.4 U/ml) at pH 6-7, temperature 65°C. The crude enzyme obtained from *Anoxybacillus flavitermus* strains turned out to be multiextremozymes, since they had their highest activity (1.2-1.9 U/ml) at temperatures typically optimal for thermophiles and pH for alkaliphiles (pH 10-11, 65°C).

The thermal stability of the crude enzymes in aqueous solution was also studied.

All lipase active strains are maintained at the Department of Microbiology and Biotechnology, YSU and will serve as new and prospective tools for various biotechnological applications.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГИДРОГЕЛЯ «ХИТОАСК·SI»

Адавия Фадхел Абаас Альзубаиди, Тяпкин С.А., Ксенофонтowa О.Ю.,
Зудина И.В.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия

ksenfontova64@mail.ru

В патогенезе большинства воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) первостепенная роль отводится воспалительным реакциям, спровоцированным местной суб- и супрагингивальной патогенной микрофлорой. В настоящее время в клинической практике нередко наблюдаются случаи проявления низкой эффективности применения антибактериальных препаратов при лечении ВЗП, что, по всей видимости, обусловлено высокой скоростью адаптации местной микрофлоры к проводимой этиотропной терапии. Решением этой проблемы может быть использование биоцидных лекарственных средств нового типа, сконструированных на основе катионных солей аминополисахаридов. Таким препаратом является гидрогель «Хитоаск·Si», основным компонентом которого служит катионная соль хитозана и аскорбиновой кислоты с добавлением кремния. Цель настоящего исследования состояла в оценке биоцидной активности гидрогеля «Хитоаск·Si» в отношении типовых штаммов бактерий.

Объектом исследований явился препарат «Хитоаск·Si», приготовленный на основе хитозана со средневязкостной молекулярной массой 39 кДа и степенью деацетилирования 79 молн.% (ЗАО «Биопрогресс», РФ). Его биоцидную активность сравнивали с действием 0,05%-ного хлоргексидина биглюконата. Из препаратов готовили растворы в МПБ в разведениях от 1:2 до 1:128. Каждый раствор вносили по 100 мкл в лунки 96-луночного микропланшета. Затем в те же лунки вносили по 100 мкл взвеси тест-культуры (*Escherichia coli* 113-13 или *Staphylococcus aureus* 209P) в концентрации 10^8 КОЕ в 1 мл МПБ и выращивали в течение 12 часов при 37 °С в режиме интенсивной аэрации. Антибактериальную активность оценивали по динамике изменения значений оптической плотности взвесей (OD_{600}) с помощью прибора *Stat Fax*® 4200 (США).

В результате проведенных исследований было установлено, что все тестовые культуры оказались чувствительны к действию препарата «Хитоаск·Si» вплоть до разведения 1:128. В то же время растворы хлоргексидина утрачивали биоцидное действие в отношении *S. aureus* 209P в разведении 1:64 и выше, а в отношении *E. coli* 113-13 в разведении 1:128 и выше. Таким образом, препарат «Хитоаск·Si» оказывает антибактериальное действие на грампозитивные и грамотрицательные штаммы, сравнимое с таковым у антисептического препарата, применяемого в стандартной схеме терапии ВЗП.

ВЛИЯНИЕ КОЛОНИЗАЦИИ МЕТИЛОБАКТЕРИЯМИ РОДА *METHYLOPILA* НА РОСТ, МОРФОГЕНЕЗ И АНТИОКСИДАНТНУЮ ЗАЩИТУ РАСТЕНИЙ

Агафонова Н.В.¹, Капарулина Е.Н.², Мустахимов И.И.¹

¹ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт,

²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

nadyagafonova@gmail.com

Метанол, метиламин и другие C₁-соединения являются естественными метаболитами растений и источниками углерода и энергии для аэробных метиловых бактерий. Из листьев *Bougainvillea sp.* и плода банана выделены два штамма, отнесенные к новым видам рода *Methylophil* – *Mp.turkiensis* Side1^T (=ВКМ В-2748) и *Mp.musalis* MUSA^T (=ВКМ В-2646). Интересно, что ранее представителей этого рода изолировали только из почв и активных илов. Так как новые представители рода *Methylophil* штаммы Side1 и MUSA ассоциированы с растениями, цель настоящей работы – анализ их влияния на рост, морфогенез и антиоксидантную защиту растений.

Установлено, что, используя С₁-метаболиты растений (метанол и метиламин), исследуемые метиловобактерии синтезируют фитогормоны – ауксины (5-8 мкг/мл), сидерофоры катехольного типа, связывающие ионы железа, а также солибилизуют нерастворимый Са₃(РО₄)₂ (концентрация свободных фосфатов достигает 167,3-172,2 мкг/л).

При инокуляции клетками исследуемых штаммов бобов фасоли и семян гороха в опытах *in vitro* отмечено, что длина и масса филлоферры колонизованных (опытных) растений превышала контрольные в 2-3 раза, а длина и масса корней – в 2-4 раза. Инокуляция метиловобактериями ростков томата и картофеля в вегетационных опытах в нестерильных условиях повлияла на общую биомассу растений и развитие корневой системы: все опытные растения имели в 1,5-2 раза большую длину и массу корней, повысилось содержание хлорофилла *a* и *b* в листьях в 1,5 раза, а удельная плотность листовой пластинки увеличилась в 2-3 раза.

Выявлено, что колонизованные метиловобактериями растения обладали большей устойчивостью к окислительному стрессу (обработка 5мкМ раствором параквата). Активности ферментов-антиоксидантов у опытных растений возросли: супероксиддисмутаза – в 1,4 раза, каталаза – в 1,5 раза, пероксидаза – в 1,5-2 раза. При этом содержание пролина (протектора мембран) под действием стрессора у контрольных растений практически не изменилось, а у опытных повысилось в 2 раза, что указывает на повышение устойчивости колонизованных растений к стрессу.

Т.о., показано, что филлоферные метиловобактерии рода *Methylophila* – *Mp.turkiensis* Side1^T и *Mp.musalis* MUSA^T являются фитосимбионтами, потребляют выделяемые растениями С₁-субстраты, синтезируют фитогормоны, сидерофоры, обладают фосфатсолибилизирующей активностью, улучшают рост растений, фотосинтетические показатели и участвуют в активации антиоксидантных систем при окислительном стрессе растений.

Работа поддержана госзаданием Минобрнауки РФ №6.749.2014/к.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК VERO И ВНК-21 CLONE 13 ДЛЯ НАКОПЛЕНИЯ БИОМАССЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ШТАММА ВИРУСА БЕШЕНСТВА *L.PASTER*

Али С.Г., Лаврик А.А., Баглай О.А., Новикова О.Ю.
ПАО «ФАРМСТАНДАРТ-БИОЛЕК», Харьков, Украина

lavrik@biolik.com.ua; a_lavrik@rambler.ru

Проблемы с созданием эффективных антирабических препаратов (вакцин, иммуноглобулинов) обусловлены, прежде всего, трудностями, связанными с наработкой высокоактивной биомассы вируса бешенства. На сегодняшний день репродукцию вируса бешенства успешно осуществляют в различных клеточных системах. Наиболее активно – в культурах клеток ВНК-21/13 и VERO (клетки почки сирийского хомяка и почки зеленой мартышки соответственно). Они же наиболее успешно используются при производстве антирабических препаратов. В то же время данные относительно динамики накопления вирусной биомассы в этих клетках разнятся. При этом известно, что эти культуры обладают различными пролиферативным потенциалом и адгезивными свойствами.

В связи с вышеизложенным, в задачах данной работы ставилось исследовать не только скорость накопления биомассы вируса бешенства в клетках ВНК-21/13 и VERO, но и зависимость данного показателя от пролиферативных и адгезивных свойств данных культур.

Для определения пролиферативной активности клетки выращивали в ростовой среде (90 % DMEM, 10 % фетальной бычьей сыворотки (S_f)), фиксировали и окрашивали гематоксилином каждые 24 часа их роста при 37 °С. Для определения адгезивных свойств клетки, выращиваемые в поддерживающей среде (99 % DMEM, 1 % S_f), используемой для накопления вирусной биомассы, инкубировали при 33 °С и заменяли среду до первых проявлений деструкции клеточного монослоя. Специфическую активность вируса, накопленного по мере замены поддерживающей среды и сбора (соответственно) вирусной биомассы, определяли методом титрации и визуализации с использованием люминесцентного микроскопа и FITC - моноклональных антител (Fujirebio) к вирусу бешенства на модели культур клеток ВНК-21/13.

Исследования пролиферативных свойств ВНК-21/13 и VERO показали, что пик митотической активности клеток ВНК-21/13 приходится на 2-е сутки роста (до 64 %), в то

время как Vero – на 3-4 сутки (до 33 ‰). Анализ адгезивных свойств культур показал, что клетки ВНК-21/13 выдерживают без признаков старения культивирование в поддерживающей среде до 9 суток с трехкратной заменой среды (на 3-и, 5-е и 7-е сутки после посева), тогда как клетки Vero – 18 суток и 5 замен соответственно (на 4-е, 7-е, 10-е, 13-е и 15-е сутки). Исследования вирулентности биомассы, которая собиралась при замене среды, показали, что в первом сборе вируса, накопленном в культуре ВНК-21/13 ($10^{-8.5}$ FFD₅₀), превышает аналогичный показатель при использовании клеток Vero ($10^{-5.9}$ FFD₅₀), однако совокупный объем вирусной биомассы аналогичной активности, накопленной в клетках Vero, превышал аналогичный показатель с использованием ВНК-21/13, в сотни раз. В то же время культура ВНК-21 обладает способностью быстро накапливать вирусную биомассу в ограниченном отрезке времени.

СОДЕРЖАНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ФОРМ В МИКРОБОЦЕНОЗАХ ПОЧВ РЕКРЕАЦИОННЫХ ЗОН ГОРОДОВ ЮГА РОССИИ

Ажогина Т.Н.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии,
Ростов-на-Дону, Россия

t.azhogina@mail.ru

Разносторонняя деятельность человека в крупных городах приводит к сильному вмешательству в естественное функционирование экосистем. Городская почва находится на стыке природных и городских систем, в ней происходит наложение антропогенных процессов на естественные процессы почвообразования. Почва содержит огромное биоразнообразие микроорганизмов, участвующих в процессах почвообразования. Отмечается более высокая устойчивость мицелиальных форм по сравнению с другими группами почвенных микроорганизмов к урбаногенному и техногенному воздействию, что может приводить к увеличению долевой представленности актиномицетов и микромицетов в почвенном микробном комплексе крупных промышленных городов.

Целью данной работы было определение и сравнение количества мицелиальных форм, содержащихся в почвах рекреационных зон городов с различной антропогенной нагрузкой: мегаполиса Ростова-на-Дону и двух небольших близлежащих городов: Азова и Аксая.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи: определить количество клеток актиномицетов и грибов и сравнить данные показатели в почвах рекреационных зон исследуемых городов.

Отбор проб производился осенью на глубине 0-10 см в парках: в г. Ростове-на-Дону – парки им. Горького, им. Островского; в г. Азове – парк «Жемчужина Азова» и «Сквер Азова» в г. Аксае – Парке культуры и отдыха, Мухина Балка. Подготовка образцов была произведена общепринятыми методами. Актиномицетов выделяли на среде КАА, грибы – на среде Чапека.

При анализе полученных данных установлено, что максимальное содержание актиномицетов, зарегистрированное в почвах парка Мухина Балка г. Аксая, составило $14,0 \times 10^5$ КОЕ/г почвы, а минимальное – в почвах парка им. Горького г. Ростова-на-Дону, составило $1,9 \times 10^5$ КОЕ/г почвы. Таким образом, для почв более крупных парков характерно более высокое содержание актиномицетов во всех трех городах.

Минимальное содержание микромицетов наблюдалось в почвах парка им. Горького и составило $2,1 \times 10^4$ КОЕ/г почвы, максимальное – в почвах парка «Жемчужина Азова» составило $7,9 \times 10^4$ КОЕ/г почвы. В почвах крупных парков, расположенных на окраинах городов Ростова-на-Дону и Аксая, содержание грибов превышало данный показатель почв меньших парков, расположенных в центре города, в 1,6 и 1,4 раза соответственно. Исключением являются почвы города Азова, где содержание грибов в почве меньшего парка в 2 раза превышает аналогичный показатель в почве крупного парка.

О закономерностях функционирования микроценозов исследуемых почв рекреационных зон можно будет говорить только после многолетних наблюдений, что требует дальнейших исследований.

СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Алексеев К.П., Лень Н.В., Волченко Н.Н., Самков А.А.

ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

xenya.alexeevko@yandex.ru

Существуют различные методы ликвидации нефтяных разливов, они чрезвычайно разнообразны и отличаются друг от друга в зависимости от среды, в которую попала нефть и от средств которые применяются при очистке. Наиболее перспективными являются биологические методы, основанные на естественных процессах разложения нефти в природе, участие в которых принимают нефтеокисляющие микроорганизмы.

Целью нашей работы являлось оценить влияние физическо-химических факторов на стимуляцию роста углеводородоокисляющих родококков коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии КубГУ: облучение низкочастотным электромагнитным полем (ЭМИ), влияние отдельных витаминов, и поливитаминного препарата. Способность к деструкции широкого спектра нефтепродуктов в лабораторных и полевых условиях была показана сотрудниками кафедры ранее.

На начальном этапе исследования оценивали биологический эффект от воздействия ЭМИ в диапазоне 9-17Гц, затем продолжался поиск частоты в более широком диапазоне ЭМИ, которые бы давали явный биологический эффект. Для этого были выбраны значения с шагом в 5Гц в диапазоне от 20 до 55Гц. В качестве контроля использовался образец без облучения. Облучение проводилось каждый день, в течение всего времени культивирования по 5-10 минут. По полученным данным нами было определено, что воздействие большей частью частот не давало видимого результата, а облучение частотами 10-14Гц и 55Гц вело к стимулированию роста по сравнению с контролем. При облучении 17Гц регистрировалось подавление роста. Следующий этап наших исследований заключался в определении как комплексного, так и индивидуального влияния витаминов. Изучение индивидуального влияния проверялось на витаминах группы В (В1, В2, В6, В9, В12). Внесение витаминов В1, В2, В6, В12, не оказывало стимулирующего эффекта на рост. А при внесении витамина В9 рост бактерий увеличивался почти в 2 раза по сравнению с контролем. Для изучения комбинированного влияния витаминов использовался поливитаминный препарат «Супрадин» (в концентрациях 0,08г/л, 0,8г/л и 8 г/л). В ходе опыта нами было установлено, что при внесении поливитамина в концентрации 0,08 г/л наблюдалась стимуляция роста *Rhodococcus*, по сравнению с контролем почти в 3 раза, а в случае внесения поливитамина в концентрациях 0,8 и 8 г/л угнетало рост бактерий.

Полученные результаты позволяют заложить научные основы для пилотного производства и наибольшего выхода биомассы нефтеокисляющих микроорганизмов.

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЧИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИЕЙ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Андреева Т.С.¹, Мельникова Е.А.², Зайцева Е.А.¹

¹ФГБОУ ВПО Тихоокеанский государственный медицинский университет,

²ГБУЗ «Краевая детская клиническая больница №1», Владивосток, Россия

atstl@mail.ru

В последние годы по данным ряда авторов на первое место в этиологии инфекции мочевой системы (ИМС) выходят грамположительные кокки, в частности *Enterococcus faecalis*. Морфологические и функциональные особенности почек и мочевыводящих путей новорожденных детей вызывают селекцию штаммов микроорганизмов, устойчивых к бактерицидному действию гуморальных факторов защиты. Определенные факторы патогенности способствуют *E. faecalis* проникать, сохраняться и размножаться в тканях хозяина, воздействуя на его функции. Адгезия, как фактор патогенности, является первым, определяющим этапом колонизации патогенных бактерий в организм человека, способствует образованию биопленок. Однако свойства энтерококков в роли уропатогенов еще до конца не изучены.

Цель работы – изучение адгезивных свойств *E. faecalis*, выделенных из мочи новорожденных детей с инфекцией мочевыводительной системы.

В работе исследованы культуры *E. faecalis*, выделенные у новорожденных с ИМС (n = 22). Микробиологические свойства энтерококков изучали согласно приказу МЗ СССР № 535. Адгезивную способность энтерококков определяли по методике В.И. Брилис с соавторами (1986), в тесте *in vitro* на эритроцитах О (I) группы крови Rh (+).

Большинство *E. faecalis*, изолированные у детей с ИМС показали однотипные фенотипические свойства. Все исследуемые штаммы *E. faecalis* (n=22) обладали способностью взаимодействовать с эритроцитами человека. При оценке индекса адгезивности микробов (ИАМ) у энтерококков выделили две группы. В первую группу вошло $86,3 \pm 7,4\%$ штаммов *E. faecalis*, показавших высокую адгезивную способность (ИАМ выше 4,0), во вторую - $13,6 \pm 7,4\%$ штаммов со средней адгезивностью (ИАМ = 2,51 - 4,0). Выявлено пять штаммов энтерококков с выраженной способностью к адгезии (ИАМ выше 7,44), и у которых выявлялась ферментативная активность, связанная с патогенностью (протеолитическая, гемолитическая, липолитическая и лецитиназная активности), наличие капсулы. Эти культуры *E. faecalis* были выделены в диагностическом титре $10^3 - 10^5$ КОЕ/мл у детей с инфекцией мочевыводящих путей, протекавшей на фоне пневмонии.

Выводы. Большинство *E. faecalis*, выделенных от пациентов с урогенитальной патологией, обладают высокими адгезивными свойствами, что создает этим бактериям определенные преимущества в колонизации и инициации инфекционного процесса. Полученные результаты требуют дальнейшего изучения не только адгезивных свойств выделенных энтерококков, но и других факторов патогенности.

ШТАММ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* FCa3LC ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

Анисимова Е.А., Яруллина Д.Р.

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

elizaveta-real@mail.ru

Бактерии рода *Lactobacillus* широко применяются в медицине и сельском хозяйстве, поскольку обладают антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов за счет образования органических кислот, бактериоцинов, перекиси водорода и других антимикробных веществ. Селекция новых, производственно перспективных штаммов лактобацилл – важная и актуальная задача, так как влечет за собой увеличение разнообразия биотехнологической продукции. Целью данной работы является характеристика антагонистической активности бактерий *Lactobacillus plantarum* FCa3L.

Штамм *L. plantarum* FCa3L был выделен нами из квашеной капусты, охарактеризованы его культуральные и физиолого-биохимические свойства. Родовая принадлежность определена, согласно ГОСТ 10444.11-89, видовая – методом прямого белкового профилирования MALDI-TOF. На чашках Петри методом агаровых блоков оценена антагонистическая активность *L. plantarum* FCa3L в отношении 14 грамположительных и грамотрицательных условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих пищевые инфекции. Установлено, что бактерии *L. plantarum* FCa3L обладают широким спектром антимикробного действия, подавляя рост 8 из 14 использованных тест-микроорганизмов, при этом наибольшая антагонистическая активность отмечена в отношении *Salmonella sp.*, *Acitobacter baumannii*, *Enterobacter aerogenes* и *Listeria monocytogenes* EGD-e. Бактериоцины, выделенные из культуральной жидкости *L. plantarum* FCa3L высаливанием сульфатом аммония при 70% насыщения, вызывали слабую задержку роста бактерий *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Serratia marcescens*. Оценив способность *L. plantarum* FCa3L изменять pH среды культивирования, установили, что данный штамм является медленно закисляющим. На среде, содержащей 3,3',5,5'-тетраметилбензидин и пероксидазу, обнаружена способность лактобацилл продуцировать пероксид водорода.

Таким образом, антагонистическая активность бактерий *L. plantarum* FCa3L, вероятно, обусловлена H₂O₂, а штамм-продуцент может иметь практическую ценность в качестве стартерной культуры для производства консервантов и фармацевтических препаратов с антимикробными и пробиотическими свойствами.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПОЛЕЗНЫМИ СВОЙСТВАМИ, ИЗ ТКАНЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

Афонин А. М.^{1,2}, Новоселова Н.Н.¹, Сулима А.С.¹, Ахтемова Г.А.¹, Жуков В.А.¹, Борисов А.Ю.¹, Тихонович И.А.¹

¹ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

afoninalexeym@gmail.com

Многие бактерии способны использовать внутреннюю среду растения (эндосферу) в качестве экологической ниши. Эндофитными называются только те из них, которые, колонизируя внутренние ткани растения, не вызывают заболеваний и не оказывают отрицательного влияния на их рост и развитие. Каждый из приблизительно 300 тыс. видов растений потенциально может быть хозяином одного или нескольких эндофитных микроорганизмов, к которым относятся грибы и бактерии. В настоящее время растительные эндомикробиомы практически не изучены.

Цель работы: выделить и изучить культивируемые бактериальные эндофиты гороха (*Pisum sativum* L.) для последующего создания микробных препаратов.

Эндофитные бактерии выделяли из стеблей и семян гороха посевного (*Pisum sativum* L.) генотипов: И 2822, VIR 8274, «Триумф». Семена и стебли предварительно стерилизовали с помощью 70% спирта и гипохлорита натрия с последующим высевом на агаризованные питательные среды TSA, 1/20 TSA, R2A, среда Кинга и МПА с глицерином. Было выделено 135 штаммов бактерий, из них 18 проявили агрономически полезные свойства (ростостимулирующая активность, синтез ауксинподобных веществ, фунгицидная и антибиотическая активность). Молекулярно-генетическая идентификация штаммов была проведена путем секвенирования при помощи универсальных праймеров последовательности гена 16S рРНК, включающей участки V1-V9.

Идентифицированные штаммы представляют 8 родов: *Bacillus* (доминирующий), *Stenotrophomonas*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Kocuria*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Actinobacterium*.

Таким образом, эндомикробиом гороха, в основном, представлен грамположительными бактериями. Штаммы бактерий, показавшие наилучшие агрономически полезные свойства, принадлежат к роду *Bacillus*.

В дальнейшем планируется анализ большего количества линий гороха и анализ таксономического состава их эндомикробиомов с использованием дополнительных семантид (диагностических последовательностей).

Исследование выполнено при поддержке грантов Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (14-04-32289).

ЭПИФИТНОЕ ДРОЖЖЕВОЕ СООБЩЕСТВО НА ОРГАНАХ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА

Бабажанова В.А.

НФ ТашПМИ, Нукус, Узбекистан

venus82@inbox.ru

Эпифитные дрожжи и растения вместе образуют единую симбиотическую коэволюционирующую систему, которая может служить хорошей моделью для изучения многих фундаментальных вопросов экологии и эволюции. Сообщества эпифитных дрожжей филлосферы и сопряженных с ней растительных субстратов (цветов, плодов, почек) являются постоянной и неотъемлемой частью любого растения, перестраивающейся в процессе его онтогенеза. По мере развития и постепенного отмирания растительных субстратов эпифитные виды дрожжевых грибов закономерно оказываются в подстилке и верхних почвенных горизонтах, где формируются специфические дрожжевые сообщества, в состав которых, кроме типичных эпифитов, входят также и автохтонные виды почвенных дрожжей. В разлагающихся растительных остатках также доминируют базидиомицетовые дрожжи, но среди них уже

большую долю составляют виды с относительно высокой для дрожжевых грибов гидролитической активностью. В основном это представители родов *Cystofilobasidium*, *Trichosporon*, *Cryptococcus*, *Leucosporidium*. Микроклимат, который создается на поверхности листьев, имеет свои существенные особенности: скорость ветра значительно снижена из-за присутствия на листьях поверхностных выростов (трихом, железистых волосков и др.), относительная влажность обычно выше, чем в окружающей атмосфере. Если температура воздуха 30 С⁰ - ниже. При этом в центральной части листовой пластинки температура обычно выше (примерно на 4 С⁰), чем по краям. Значение рН для листовой поверхности установить непросто, так как оно сильно варьирует по микролокусам, и, таким образом, различные микробные биопленки и одиночные клетки развиваются в разных условиях кислотности среды. Именно к такому непростому комплексу условий эпифитам приходится адаптироваться. Таким образом, эпифитное сообщество дрожжей предпочитает специфические локусы, богатые углеводами, органическими кислотами и т.п. Поскольку дрожжи – сахаролитики, они охотно формируются на поверхностях растений, пораженных тлями, развитие которых вызывает накопление сахаристых выделений.

ИММОБИЛИЗОВАННЫЙ ФИЦИН – ДЕСТРУКТОР МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК

Байдамшина Д.Р.¹, Каюмов А.Р.¹, Холявка М.Г.², Гризна Е.Ю.¹

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

²ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

prosto-di@mail.ru

Многие бактерии способны образовывать прочные биопленки, в которых клетки погружены в выделяемый ими полисахаридный матрикс. В составе биопленки бактерии становятся неязвимы для защитной системы организма и устойчивы к действию антибиотиков, вследствие чего являются причиной хронических воспалительных процессов. Поэтому одним из направлений в фармакологии является разработка препаратов, которые бы эффективно разрушали бактериальные биопленки. Одним из подходов является покрытие поверхностей протеолитическими ферментами, которые разрушают белковый компонент матрикса биопленки. Имобилизованными на нерастворимых носителях протеолитическими ферментами можно покрывать перевязочный материал для лучшего ранозаживления.

Целью работы было изучить воздействие фицина и его имобилизованных форм на разрушение биопленок, образованных различными условно-патогенными бактериями,

Для определения эффективности разрушения биопленок клетки *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* выращивали в 96-луночных планшетах при 37°C на среде БМ для образования прочной биопленки. После 72 часов культивирования, удаляли культуральную жидкость, вносили чистую среду и ферменты в конечных концентрациях 1, 10, 100 мкг/мл и инкубировали в течение 24 часов. После проводили окрашивание биопленки кристаллическим фиолетовым. Образование биопленки считали достоверным, когда оптическая плотность превышала значение 0.1. Растворимый фицин разрушал биопленки всех тестируемых штаммов уже в концентрации 1 мкг/мл. Наиболее чувствительными были штаммы *S.aureus* и *S. epidermidis*. Имобилизованные формы были менее активны, однако биопленки *S.aureus* и *P.aeruginosa* разрушались на 30% при концентрациях имобилизованного фицина 10 мкг/мл (в пересчете на белок). Исследовали мутагенную и цитотоксическую активность растворимых и имобилизованных препаратов протеиназы. По результатам теста Эймса и ДНК-повреждающего теста не было выявлено мутагенного действия веществ. Данные МТС-теста на клетках линии MCF7 и ствольных клетках показали отсутствие цитотоксичности соединений.

Таким образом, фицин и его имобилизованные на хитозане формы могут использоваться для борьбы с бактериальными биопленками в медицине и ветеринарии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_a.

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА *BACILLUS GINSENGIHUMI*, ПРОДУЦЕНТА ФИТАЗЫ

Баранова Д.С., Тойменцева А.А., Шарипова М.Р.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

DashulyaBaranova@mail.ru

Фитазы – особая группа ферментов фосфатаз, обладающих способностью катализировать последовательный гидролиз фитатов с высвобождением неорганического фосфата. Фитиновая кислота связывает большое количество фосфора, тем самым делая сельскохозяйственные корма на 70-80% недоступными для переваривания животными. Поэтому фитазы, которые способны гидролизовать фитат, широко используются в биотехнологии, как кормовые добавки. Задачей настоящей работы явился поиск и описание нового штамма бацилл - продуцента фитазы. Фитазы бацилл отличаются от остальных фитаз наличием широкой термостабильности и высокой специфичности к субстрату - фитату. Именно благодаря этим свойствам нами для характеристики был выбран штамм *Bacillus ginsengihumi* M2.11 выделенный с территории ООО Тепличного комбината "Майский" (Зеленодольский район, РТ). Наличие фермента фитазы определяли, высевая отдельные колонии на питательной среде PSM, содержащей 0,4% фитата натрия. Через 3 дня после посева фиксировали зоны гидролиза. Через 5 дней зоны достигли 1 см в диаметре. Для подтверждения наличия гена фитазы в геноме проводили ПЦР с использованием универсальных праймеров последовательность которых соответствует последовательности гена фитазы *B. subtilis*. Анализ результата проводили при помощи электрофореза в 1.5% агарозном геле. Электрофорез подтвердил наличие гена фитазы у штамма *B. ginsengihumi* M2.11.

Полногеномное секвенирование проводили на платформе GS Junior (454 пиросеквенирование/Roche). *De novo* сборка и анализа контигов проводились с использованием ассемблера SPAdes 3.5.0. Геном штамма *B. ginsengihumi* M2.11 депонирован в GenBank под номером JRUN00000000.1. Были описаны морфологические и физиологические характеристики штамма *B. ginsengihumi* M2.11. Окраска по Граму показала наличие грамположительных палочек с эндоспорами. Электронно-микроскопический анализ колоний, так же подтвердил, что культура чистая и состоит из палочек одинаковой длины (1-1,5 мкм). Проверка на устойчивость к антибиотикам показала, что штамм чувствителен к широкому ряду антибиотиков. Общую протеолитическую активность измеряли по гидролизу азоказеина. Культивирование колоний проводили на питательной среде LB-агар в течение 48 часов. Результат показал отсутствие способности штамма *B. ginsengihumi* M2.11 гидролизовать азоказеин. Аналогичные результаты были получены при посеве культуры на молочный агар, при этом в качестве продуцента протеиназ были взяты колонии *B. pumilus*. Далее будет проведен подбор оптимальной минеральной питательной среды для роста *B. ginsengihumi* M2.11 и анализа фитазной активности.

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНЫХ И АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ЭКДИСТЕРОИДСОДЕРЖАЩИХ СУБСТАНЦИЙ

**Безматерных К.В.¹, Володин В.В.², Володина С.О.², Смирнова Г.В.¹,
Октябрьский О.Н.¹**

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

²ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

hydrargyrum@iegm.ru

Экдистероиды составляют самое распространенное и многочисленное семейство стероидных соединений в биосфере; они участвуют в жизнедеятельности практически всех классов организмов, выполняя множественные функции. Ни один из видов млекопитающих не синтезирует экдистероиды; в организм человека и других теплокровных они поступают вместе с растительной пищей. На основе экстрактов растений, богатых экдистероидами, созданы препараты, обладающие адаптогенными свойствами. К ним относится экдистероидсодержащая субстанция Серпистен, разработанная в лаборатории биохимии и биотехнологии Института

биологии Коми НЦ УрО РАН. Серпистен – это смесь 20-гидроксиэкдизона (20E) и инокостерона. В настоящее время имеется недостаточно данных о влиянии фитоэкдистероидов на микробиоту человека, известно лишь, что они не оказывают отрицательного воздействия на ассоциации микроорганизмов, обитающих в кишечнике.

В данной работе был проведен комплексный анализ антиоксидантных (АО) и адаптогенных свойств экстрактов серпухи венценосной, пажитника сенного, биодобавки Серпистен и 20E. Изучали воздействие этих субстратов на выживаемость бактерий *Escherichia coli*, экспрессию антиоксидантных генов *katG* и *sodA* и генов общего стрессового ответа *rpoS* и *katE* в условиях стресса, вызванного перекисью водорода и различными антибиотиками. Все исследуемые субстанции в различной степени проявляли протекторное воздействие на бактерии. Показан АО эффект экстрактов серпухи и пажитника, которые демонстрировали выраженную способность к ингибированию свободных радикалов DPPH и хелатированию железа. Серпистен и 20E не оказывали выраженной АОО в тестах *in vitro*, однако повышали выживаемость бактерий при действии антибиотиков. В этом отношении 20E был наиболее эффективным в защите бактерий от стрептомицина, канамицина (10 и 40 мкг/мл) и ципрофлоксацина (3 мкг/мл). Серпистен оказывал выраженное защитное действие в случае цефотаксима (5 и 10 мкг/мл).

Наши данные свидетельствуют о том, что радикалсвязывающая активность, хелатирующая способность и ингибирующее действие на рост бактерий, а также прооксидантные и антиоксидантные свойства у испытанных экстрактов были в значительной мере обусловлены присутствием полифенолов. Адаптогенное действие серпистена и 20E на *E. coli* может быть связано с гормоно- или витаминоподобными свойствами. Требуется дальнейшее изучение конкретных молекулярных механизмов этого процесса. Исследования поддержаны грантами РФФИ № 13-04-00706, 13-04-96039 и № 14-04-96031.

РАЗРАБОТКА ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМЫ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРО-ДНК ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Богомолов А.И.^{1,2}, Калашников А.Е.¹, Гладырь Е.А.¹

¹ФГБНУ ВНИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста, Московская область;

²ФГБОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина Москва, Россия

art-bogwk@yandex.ru

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (BLV) вызывает высококонтагиозную инфекцию, которая протекает в скрытой форме, поражает ряд ключевых видов сельскохозяйственных животных и представляет высокую опасность при их разведении (Zybailov V.L. et al, 2013, Rola-Łuszczak M. et al, 2013). Лейкоз наносит значительный экономический ущерб в молочном скотоводстве, около 525 миллионов долларов в год (в мире). Для эффективной борьбы с инфекцией необходимо разрабатывать современные методы диагностики (Herenda D. et al, 2000; Постановление ФАО # 1059/32 от 28.08.12). Диагностика классическими методами: РИД, ИФА - не может обеспечить достаточной диагностической и аналитической чувствительности (Виноградова И. В. и др., 2011г.)

Поэтому была поставлена задача разработки ПЦР тест-системы нового поколения с детекцией флуоресценции в реальном времени. Праймеры были подобраны на основании данных метагеномного анализа при сравнении максимального количества (более 600) известных изолятов BLV. Нами был проведен анализ с учетом областей высокой кинетики мутаций наиболее географически и структурно подразделенных изолятов, что позволит в дальнейшем выявлять новые неизвестные изоляты BLV, занесенных на территорию России. Амплификацию осуществляли по трем мишеням про-вирусной ДНК BLV: в области гена поверхностных эпитопов *env* и в области референсных генов *ActB* и *GAPDH*, для возможности амплификации в количественном режиме и дальнейшей калибровки в необходимых для расчета единицах. Были подобраны специфические олигонуклеотиды для мишени и последовательность флуоресцентного зонда, рассчитанных по системе Taqman (Applied Biosystems, США). Температура отжига, длина продукта и время элонгации подобраны таким

образом, чтобы проводить амплификацию в единых условиях по алгоритму Taqman или по классической схеме с инактивированной полимеразой с 5'-экзонуклеазной активностью. Универсальность метода и его высокая эффективность может быть полезна в ветеринарной практике и фундаментальных исследованиях.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА БЕНЗОАТА БАКТЕРИЕЙ *RHODOCOCCLUS OPACUS* 1CP

Борзова О.В.^{1,2}, Емельянова Е.В.¹, Соляникова И.П.¹

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

²ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт,
Пущино, Россия

Innas@IBPM.pushchino.ru

Грам-положительная бактерия *Rhodococcus opacus* 1CP является эффективным деструктором бензоата, широко используемого в пищевой и медицинской промышленности консерванта. Известно, что в аэробных условиях микробное разложение бензоата начинается с атаки на субстрат бензоат диоксигеназой (БДО) и проходит с образованием ряда соединений, среди которых наиболее часто встречается пирокатехин. К возможным интермедиатам разложения также относятся протокатеховая кислота, *мета*- и *пара*-гидроксibenзоаты и 2,5-дигидроксibenзоат, хотя в бактериальных путях они встречаются значительно реже. Ключевыми ферментами, определяющими путь дальнейшего превращения пирокатехина, являются пирокатехин 1,2- (ПК 1,2-ДО) и пирокатехин 2,3- (ПК 2,3-ДО) диоксигеназы. У бактерий широко представлены оба фермента.

Целью данной работы было изучение особенностей роста бактерии *Rhodococcus opacus* 1CP на бензоате и установление ферментного пула при росте культуры на данном токсиканте. В результате проведенных исследований показана индукция БДО с узкой субстратной специфичностью. Анализ данных по активности БДО штамма *R. opacus* 1CP выявил, что активация дыхания (20% от уровня дыхания в присутствии бензоата) происходила только в присутствии 2-хлорбензоата, 3,5-дихлорбензоата и 2,5-дигидроксibenзоата. Остальные изомерные моно и дихлорбензоаты и моно и дигидроксibenзоаты не являлись субстратами для БДО из *R. opacus* 1CP. 2,4-дихлорбензоат и 5-хлорсалицилат ингибировали дыхание клеток. В экстракте клеток, выращенных на бензоате, была обнаружена активность ферментов *орто*-расщепления пирокатехина – ПК 1,2-ДО и муконатциклоизомеразы. Таким образом, разложение бензоата культурой *R. opacus* 1CP проходило по пути *орто*-расщепления. Кроме того, в бесклеточном экстракте присутствовала активность протокатехоат 3,4-диоксигеназы (ПКК 3,4-ДО). Причем удельная активность ПК 1,2-ДО (0,159 Ед/мг белка) была ниже, чем ПКК 3,4-ДО (0,229 Ед/мг белка). После проведения ионообменной хроматографии активности обоих ферментов коэлюировались, однако, удельная активность ферментного пула с протокатехоатом была в 1,5-2 раза выше, чем с пирокатехином.

Таким образом, показано, что рост культуры *R. opacus* 1CP на бензоате сопровождался индукцией БДО с узкой субстратной специфичностью и двумя интрадиольными активностями – ПК 1,2-ДО и ПКК 3,4-ДО. Последнее может являться следствием индукции двух различных диоксигеназ или одного фермента с необычной субстратной специфичностью.

Работа поддержана грантом РФ №14-14-00368.

БИОПЛЁНКИ, СФОРМИРОВАННЫЕ МИКРОБНЫМ СООБЩЕСТВОМ ЛАБОРАТОРНОГО АНАММОКС-БИОРЕАКТОРА ПРИ ПРОТОЧНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Бочкова Е.А., Ножевникова А.Н.

ФГБУН Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва, Россия

botchkovaekat@gmail.com

Анаммокс-бактерии – микроорганизмы, осуществляющие анаэробное окисление аммония нитритом с образованием молекулярного азота. Ни один из видов анаммокс-бактерий не выделен в чистую культуру. Как в природных, так и в антропогенных местах обитания, анаммокс-бактерии сосуществуют с представителями других групп микроорганизмов, вступая с ними в симбиотические взаимоотношения. Анаммокс-бактерии демонстрируют сильную тенденцию к прикрепленному росту и формированию биоплёнок. В работе исследовались такие мультивидовые биоплёнки, сформированные микробным сообществом лабораторного анаммокс-биореактора при проточном культивировании на минеральной среде в течение длительного времени (более 4 лет). Для исследования биоплёнок использовались методы световой, электронной, атомно-силовой, конфокальной микроскопии, а также молекулярно-генетические методы.

Микробное сообщество биореактора формирует биоплёнки двух типов. Первый тип – сферические биоплёнки-гранулы кирпично-красного цвета диаметром 5-6 мм, имеющие ригидную оболочку. Многочисленные гроздьи таких гранул формируются на волокнах полимерных носителей-ершей, установленных внутри биореактора для иммобилизации клеток. Биоплёнки второго типа формируются на стенках биореактора, это бесцветные тонкие тяжи, включающие отдельные биоплёнки-гранулы. Трёхмерные изображения микрорельефа поверхности таких биоплёнок получены с применением атомно-силовой микроскопии.

Доминирующей группой микроорганизмов в сообществе являются анаммокс-бактерии, представленные 3 флотипами. В биоплёнках обоих типов это многочисленные кластеры коккоидных клеток, погружённых в слой матрикса. Также присутствуют представители филума *Chloroflexi*, относящиеся к 6 различным флотипам. В сообществе, вероятно, они выступают как гетеротрофы, потребляя следовые количества органических веществ, образуемых в ходе роста и развития биоплёнки, а также, возможно, выполняют роль каркаса при формировании структуры биоплёнки. На микрофотографиях биоплёнок это трихомы двух типов: тонкие короткие до 20 мкм и более толстые значительной протяжённости (до 100 мкм и более), пронизывающие гроздьи сферических биоплёнок. Также в сообществе присутствуют представители филума *Proteobacteria*, среди них - нитрифицирующие и денитрифицирующие бактерии, которые также участвуют в удалении азотсодержащих веществ. На микрофотографиях это, по-видимому, немногочисленные палочковидные клетки в периферийной части биоплёнок.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки России. Идентификационный номер проекта RFMEF160714X0024.

ВИРУЛЕНТНОСТЬ КОНТРОЛЬНОГО ШТАММА ВИРУСА БЕШЕНСТВА CVS (20%-МОЗГОВАЯ СУСПЕНЗИЯ) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ ХРАНЕНИЯ

Буркова В.В.^{1,2}, Лаврик А.А.², Мороз О.Е.², Великий И.С.²

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,

²ПАО «ФАРМСТАНДАРТ-БИОЛЕК», Харьков, Украина

lavrik@biolik.com.ua; a_lavrik@rambler.ru

В мировой практике контроля препаратов против бешенства активно используются НИH-test (для проверки иммуногенности инактивированной антирабической вакцины) и MNT (для определения активности антирабического иммуноглобулина), которые проводятся на модели лабораторных белых мышей. В данных реакциях используется аттенуированный штамм вируса бешенства CVS, пассированного в мозге мышей. Наши предыдущие исследования показали,

что изменение вирулентности аттенуированных культуральных штаммов вируса бешенства в ходе хранения при низких температурах имеет тенденцию к линейной регрессии.

Целью данного исследования было изучить вирулентность контрольного штамма вируса бешенства CVS в зависимости от температуры хранения и исследовать снижение вирулентности суспензии при моделировании условий проведения контрольных тестов по определению активности антирабических препаратов.

Для исследования вирулентности суспензии моделировались температурные условия в зависимости от требований к постановке теста. Так, при постановке MNT и NIH-test – долгосрочное хранение при низких температурах (-20 и -80°C), при постановке MNT также и инкубирование при 37°C 60-75 минут, 30 минут до введения заражающей дозы в мозг лабораторных мышей. Итого – 90-105 минут после размораживания вирусной суспензии. Вирус был получен путём пассирования в мозгах белых лабораторных мышей и получения 20-% мозговой эмульсии в физиологическом растворе. Данную суспензию фасовали в криопробирки и замораживали при -20 и -80°C.

Активность вирусной суспензии до замораживания составила $7,75 \pm 0,15 \lg LD_{50}$ ($n = 5$). Достоверное снижение вирулентности наблюдали на протяжении последующего хранения. Через 3 месяца после хранения при -20°C она составила $5,80 \pm 0,13 \lg LD_{50}$, что на $25 \pm 4\%$ меньше, чем данные контроля; после хранения при -80°C – $6,45 \pm 0,16 \lg LD_{50}$ (ниже контроля на $14 \pm 4\%$).

Для моделирования условий постановки MNT предварительно приготовленные разведения инкубировали при 37°C в течение 100 минут, после чего вводили в мозг животных. В качестве контроля использовали данные по активности вируса после хранения при -20°C сразу после размораживания. Специфический падеж животных учитывали по рекомендациям ВОЗ на 6-е сутки после заражения и каждый день в течение 14 суток. После инкубирования при 37 °C активность вируса достоверно снижалась по сравнению с контролем (поставлен в тест сразу после размораживания) на $16 \pm 3\%$.

Результаты данного исследования свидетельствуют о снижении вирулентности суспензии контрольного штамма вируса бешенства CVS после хранения при низких температурах (-20 и -80°C) и инкубировании при +37°C. Эти данные свидетельствуют о необходимости разработки коэффициента снижения вирулентности в ходе хранения образцов с целью пересчёта заражающей дозы при постановке контрольных исследований активности антирабических препаратов.

РОЛЬ ЛОКУСА CD2V/C-TYPE LECTIN LIKE В АНТИГЕННОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Бурмакина Г.С., Титов И.А., Мима К.А., Малоголовкин А.С.

ГНУ ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии,
Владимирская обл., Россия

Lila5757@yandex.ru

Африканская чума свиней (АЧС) – вирусная геморрагическая лихорадка домашних и диких свиней. До сих пор не разработаны эффективные вакцины против АЧС. Тем не менее, известно о возможности успешного применения иммунизации аттенуированными вариантами вируса. Трудности в изучении иммунопатологии АЧС и механизмов защиты связаны с чрезвычайной вариабельностью и большим размером вирусного генома. Также открытым остается вопрос о наличии протективных антигенов вируса.

По результатам исследований установлено наличие восьми сероиммуногрупп вируса АЧС. Изоляты, принадлежащие к одной сероиммуногруппе, обладали гомологичными иммунобиологическими свойствами, но отличались от изолятов другой сероиммуногруппы. В связи с этим, было высказано предположение о наличии серогруппспецифического компонента вируса.

Филогенетический анализ 70 штаммов вируса АЧС показал корреляцию между генетическими кластерами на основе нуклеотидных последовательностей гена EP402R, кодирующего белок CD2v, и выявленными ранее сероиммунотипами. Таким образом, CD2v вероятно играет важную роль в модуляции механизмов иммунного ответа.

Целью данной работы являлось создание рекомбинантных вирусов АЧС с измененными генами CD2v и C-type Lectin like protein и определение роли данных белков в серотиповой специфичности.

В качестве исходных вирусов использовали аттенуированные штаммы КК-262 и ФК-32/135, принадлежащие ко 2 и 4 сероиммунотипу соответственно. Для каждого штамма вируса была создана рекомбинационная кассета для замены локуса CD2v/C-type Lectin like protein. Получение рекомбинантных клонов проводили при одновременной трансфекции клеточной линии COS-1 рекомбинационной кассетой и инфицировании гетерологичным по данному локусу вирусом АЧС. Таким образом, было получено два рекомбинантных вируса с взаимозамененным локусом CD2v/C-type Lectin like protein на основе штаммов вируса АЧС 2 и 4 сероиммунотипа.

Для определения роли данных генов в формировании серотипа вируса использовали реакцию задержки гемадсорбции в культуре клеток макрофагов свиней. Для анализа были использованы исходные и рекомбинантные вирусы, а также гипериммунные сыворотки 2 и 4 сероиммунотипов. Результаты исследования показали, что изменение локуса CD2v/C-type Lectin like protein привело к обоюдному изменению серотипов у рекомбинантных вирусов.

Таким образом, показано, что белки CD2v и C-type Lectin like protein ответственны за формирование серотипа вируса. Дальнейшее их изучение позволит получить новую информацию о механизмах взаимодействия вируса АЧС и хозяина и послужит основой для обнаружения протективного антигена.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ И СОСТАВ ПОПУЛЯЦИИ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Бырса М.Н.

Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинёв, Молдавия

mellon23@yandex.ru

Актиномицеты являются бактериями, которые на свойственной прокариотам ультраструктурной и химической основе реализуют мицелиальный план организации в более сложной форме, свойственной эукариотам – грибам.

Известно, что актиномицеты обладают высокой изменчивостью, что приводит к потере активности штамма, представляющего интерес. Одним из эффективных способов сохранения штаммов рода *Streptomyces* является лиофилизация.

Целью наших исследований явился подбор температурного режима замораживания с последующей лиофилизацией штаммов рода *Streptomyces*, обеспечивающего наилучшую выживаемость и сохранность состава популяции.

Объектами исследований были штаммы: *S. canosus* CNMN-Ас-02, *S. canosus* CNMN-Ас-03, *S. canosus* CNMN-Ас-04, *S. massasporeus* CNMN-Ас-06, *S. massasporeus* CNMN-Ас-07, *S. massasporeus* CNMN-Ас-08. Замораживание проводили при -50 °С и -80 °С с последующей лиофилизацией под вакуумом при использовании защитной среды (желатин + глюкоза).

Проведенные исследования выявили следующее: у штамма *S. canosus* CNMN-Ас-02 при обеих температурах замораживания выживаемость составила свыше 90 %, а изменчивость была минимальная. Выживаемость штамма *S. canosus* CNMN-Ас-03 составила при таких режимах лиофилизации свыше 80 %, особой разницы при описании колоний также не было обнаружено. При всех режимах лиофилизации у штамма *S. canosus* CNMN-Ас-04 наблюдался один тип колоний, однако при лиофилизации (режим -80°С) выживаемость составила 65 %, что меньше, чем при -50 °С (более 85 %). Штамм *S. massasporeus* CNMN-Ас-06 обладал большей выживаемостью в режиме -50°С (более 75 %), чем при -80°С (более 50 %), популяционный состав практически не претерпел изменений. Неоднозначная картина была замечена у штамма *S. massasporeus* CNMN-Ас-07: выживаемость при применении обоих режимов лиофилизации была практически одинаковой (~90 %), однако отмечали изменения в цвете субстратного и воздушного мицелия. Выживаемость штамма *S. massasporeus* CNMN-Ас-08 после лиофилизации не была высокой (~80 % при -50°С, а при -80°С - 70 %), однако до лиофилизации популяция составляла 3 типа колоний, а после лиофилизации в обоих случаях обнаруживали 2 типа.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что для достижения высокой выживаемости стрептомицетов, а также минимальных изменений в составе популяции желателно каждому штамму подбирать индивидуальные условия лиофилизации, позволяющие свести нежелательный эффект к минимуму.

АССОЦИАТИВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ЯБЛОННОЙ ТЛИ (*APHIS POMI*, DeGeer, 1773), ПАРАЗИТИРУЮЩЕЙ НА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЯХ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Верховский Р.А., Абалымов А.А., Глинская Е.В.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия

snowman.27@icloud.com

Микроорганизмы рода *Bacillus* - ассоцианты яблонной тли (*Aphis pomi* De Geer, 1773), паразитирующей на древесных растениях на территории Саратовской области

По разным подсчетам от 80 до 85% биомассы планеты Земля составляют микроорганизмы, освоившие все среды обитания. Именно поэтому с точки зрения экологии все макроорганизмы рассматриваются как среда обитания, весомую нишу в которой занимают бактерии. Несмотря на это, микробоценозы большинства видов живых организмов остаются практически неизученными.

В связи с вышеизложенным, целью работы являлось изучение микроорганизмов - ассоциантов яблонной тли (*Aphis pomi* De Geer, 1773).

Объектами исследований являлись бескрылые самки тлей, собранные в садах Саратовского, Хвалынского, Пугачевского и Энгельсского административных районов г. Саратова в весенне-летний период 2014 г. Микробиологическое изучение насекомых проводилось стандартными методами.

В результате исследований было выделено 11 видов рода *Bacillus*: *B. bataviensis*, *B. clausii*, *B. funiculus*, *B. halodurans*, *B. horikoshii*, *B. lentus*, *B. nealsonii*, *B. niacini*, *B. oleronius*, *B. soli*, *B. pumilus*.

Количественные показатели микроорганизмов в яблонной тле варьировали в диапазоне от 103 до 105 КОЕ в пробе из 10 особей тли. Максимальная численность наблюдалась для бактерий *B. clausii*, *B. horikoshii*, *B. oleronius*, выделенных из тлей Саратовского, Энгельсского и Пугачевского районов г. Саратова.

Индекс встречаемости изолированных штаммов находился в пределах 10 - 80%. Максимальный показатель выявлен для бактерий *B. halodurans*, выделенных из тли в черте г. Саратова в июне и августе 2014 г.

В ходе постановки биохимических тестов нами были проведены исследования сахаролитических свойств микроорганизмов – ассоциантов яблонной тли. Анализ полученных данных показал, что 91% штаммов способен расщеплять глюкозу; 82% - арабинозу и ксилозу; 73% - сахарозу; 36% - арабинозу и мальтозу; 18% - лактозу; 10% - сорбит.

Далее нами был изучен диапазон устойчивости выделенных из тли бактерий рода *Bacillus* к некоторым физико-химическим факторам: температура, pH, концентрация NaCl в среде. Выявлено, что 43% штаммов являются термотолерантными, кислую среду (pH5) выдерживает 50% штаммов, 95% изолированных бактерий способны к росту при содержании в среде 10% NaCl.

Анализ результатов исследований показал, что микробоценозы яблонной тли, обитающей в различных районах Саратовской области, относительно разнообразны и изменяются в течение сезона. Доминирующими микроорганизмами, среди культивируемых ассоциантов яблонной тли, являются бактерии рода *Bacillus*.

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ *PHYSCOMITRELLA PATENS* И ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

**Виноградова С.В.¹, Баринаева Е.Д.¹, Князев А.Н.², Арапиди Г.П.³, Фесенко И.А.³,
Урбан А.³, Хазигалеева Р.А.³, Шаварда А.Л.⁴, Игнатов А.Н.^{1,3}**

¹ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, ²ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, ³ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков и М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ⁴Научно-исследовательский центр ресурсов для молекулярных и клеточных технологий, ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru

Мхи являются одними из самых первых растений, распространившихся на поверхности Земли, и в последнее время все чаще используются в качестве объекта для изучения эволюции механизмов устойчивости к фитопатогенам. Мох *Physcomitrella patens* – новый модельный объект для проведения подобных исследований. Ранее было изучено взаимодействие *P. patens* с некротрофными патогенами: *Pectobacterium carotovorum* и грибами родов *Botrytis* и *Pythium*. Целью нашей работы является изучение взаимодействия специализированных фитопатогенных бактерий родов *Xanthomonas* и *Pseudomonas* и *P. patens*.

Гаметофоры *P. patens* культивировали на агаризованной питательной среде Кнопа в течение двух месяцев, а затем инокулировали суспензией фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas arboricola*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas viridiflava* или водой в качестве контроля. Наиболее агрессивное воздействие на гаметофоры показал штамм бактерии *P. viridiflava*, который вызывал изменение окраски уже на пятый день после инокуляции. Другие использованные в работе бактерии оказывали ингибирующий эффект на рост колоний мха и некоторое изменение окраски по сравнению с контролем.

Для подтверждения размножения фитопатогенных бактерий на гаметофорах *P. patens* сразу после инокуляции, на второй и на пятый день после инокуляции проводили выделение бактерий с зараженных растений мха, высевали на питательную среду LB и подсчитывали количество бактериальных колоний. Было показано увеличение количества колоний бактерий на питательной среде на второй и пятый день после инокуляции. Это дает основание полагать, что изучаемые бактерии являются патогенами *P. patens*.

На следующем этапе из инокулированных растений выделяли метаболиты и методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии определяли их состав. В результате показано, что бактерии *X. campestris* не вызывали защитную реакцию у *P. patens*, но стимулировали накопление соединений, необходимых для размножения бактерий в растении. Бактерии *P. syringae* были наиболее агрессивными, индуцировали накопление соединений, участвующих в системной устойчивости растений и необходимые для размножения бактерий в растениях, снижали накопление соединений, важных для местной реакции некроза. Бактерии *X. arboricola* вызывали наиболее сильное накопление метаболитов, важных для размножения бактерий в растениях, роста растений и системных метаболитов устойчивости.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-40104-Н и Гранта Президента РФ МК-7138.2015.4.

ВЫДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ ГНИЛОСТНОЙ МИКРОФЛОРЫ В СЛОВИЯХ СЛОСОВАНИЯ

Габделхадиева А.Т., Каюмов А.Р.

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

DJEKk678@yandex.ru

Эффективное развитие животноводства невозможно без получения высококачественного силоса и сенажа. Молочнокислые бактерии, необходимые для протекания процесса силосования, часто теряют свою доминирующую роль за счет смывания эпифитной молочнокислой микрофлоры дождями в период уборки, загрязнением маслянокислыми

бактериями. Это приводит к чрезмерному развитию гнилостной микрофлоры и порче силоса. Для решения этой проблемы разрабатываются микробиологические препараты на основе молочнокислых бактерий, которые подавляют гнилостную микрофлору.

Целью работы было выделение из природных источников активных штаммов молочнокислых бактерий, обладающих антагонистической активностью против гнилостных микроорганизмов. В качестве источника, для выделения молочнокислых бактерии, выбрали силос и растения *Elytrigia repens* - пырей ползучий. Проводили идентификацию молочнокислых бактерий, обладающих антагонистическими свойствами против *B.subtilis*, *S.typhimurium*. Из 200 молочнокислых бактерий, выделенных из травы и силоса, отобрали 6 штаммов (№1, 8, 9, 10, 15, 16), обладающих наиболее высокой антагонистической активностью по отношению к тестерным штаммам *S.typhimurium* и *B.subtilis*. Проведенный анализ показал, что штаммы № 1, 8, 9 выделяют перекись водорода. Все 6 штаммов снижали значение pH среды за сутки более чем на 2 единицы, референсные лактобациллы (*L.plantarum* и *L.brevis*) снижали pH среды на 0.5 единицы. Результаты микроскопии показали, что штаммы 1 и 8 являлись грамположительными палочками, Штаммы 9 и 10 - грамположительные кокки, штамм 15 - грамотрицательные палочки. Штамм 16 окрашивался по Грамму положительно, однако идентификация формы бактерий неоднозначна.

Провели предварительные эксперименты для оценки возможности подавления гнилостной микрофлоры в процессе ферментации силоса. Для этого клетки штамма № 1 в виде суспензии вносили в силос и инкубировали при 37 °С. Через 24 часа инкубации оценивали количество энтеробактерий путем посева на элективную среду Эндо. В случае внесения суспензии бактерий наблюдали значительное снижение (более чем в 10 раз) количества бактерий, выросших на среде Эндо. Таким образом, данный штамм можно использовать для подавления гнилостной микрофлоры при силосовании или интенсификации этого процесса.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-32317, мол_a.

НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗ ПРИЗАБОЙНЫХ ЗОН НЕФТЯНЫХ СКВАЖИН С ВЯЗКОЙ НЕФТЬЮ И ИХ СВОЙСТВА

Галлямова С.Р., Сорокина А.В., Морозов Н.В., Бардина Т.С.

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

galliamova95@mail.ru

Нефть, как химическое сырье и топливо, играет важную роль в хозяйственно-экономической системе подавляющего большинства стран мира и в том числе России. Запасы легкодобываемой нефти повсеместно сокращаются, и насущной проблемой на сегодняшний день является извлечение тяжелых и сверхтяжелых флюидов. Известные методы – реагентная, тепловая обработка, сжигание пласта и другие - довольно высокзатратные и экономически не выгодные.

Одним из целесообразных и приемлемых путей повышения нефтеотдачи пластов тяжелых нефтей является микробиологический способ, основанный на широком использовании деятельности разнообразных групп гетеротрофных микроорганизмов, включая углеводородокисляющие. Важной составляющей частью данного направления исследований является выделение и выбор углеводородокисляющих бактерий с широким спектром биодеструкции различных по природе нефтей и их использование для повышения нефтеотдачи пластов.

Целью настоящей работы явилось выделение из призабойных зон нефтяных скважин, с тяжелыми нефтями и замазученных ими территорий, аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры с дальнейшей идентификацией до вида и изучение их эмульгирующих и сурфактантных свойств, способствующих переводу вязких флюидов в легкоподвижные углеводороды.

Материалом для исследований служили кустовые скважины Ерыклинского (№1234, 1244,40), Мало-Титовского (№377,436), Ивинского (№5320, 5321) и Шереметьевского (№6005, 739) месторождений нефти ОАО «Татнефтепром» и ОАО «Нефтеконсорциум» Республики Татарстан.

Всего из вышеназванных объектов выделено 24 изолята углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ). Из них путем отбора сформировано пять видов штаммов, совместимых между собой и высокоактивных в биодеструкции вязких нефтей. Они отнесены к родам: *Achromobacter*, *Bacillus*, *Brevundimonas* и *Ochrobactrum*. Последние «работают» в изменяющихся условиях среды (рН, температура, соленость, кислород и т.д.), не патогенны организмам экосистемы, включая человека.

Изоляты вырабатывают в процессе жизнедеятельности био ПАВ-экзо и эндо-типа. В соответствии с этим свойством можно заключить о способности УОМ, входящих в состав ассоциации – разжижать тяжелые нефти.

Ведутся исследования по созданию на базе ассоциации консорциума УОМ промышленного образца и для управляемого применения перевода однотипных вязких нефтей в легкотекучие углеводороды.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МИКРОБОЦЕНОЗА СМОРОДИНОВОЙ ТЛИ (*APHIS SCHNEIDERI* В.) В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Гамидова Ф.Э., Петерсон А.М.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия

saida.gamidowa@yandex.ru

Смородиновая тля является вредителем черной, красной, белой смородины во многих районах нашей страны, в том числе и в Саратовской области. Использование биологических методов борьбы с этими вредителями делает необходимым исследования их спонтанного микрообносительства. Целью данной работы явилось изучение сезонной динамики микробоценоза смородиновой тли на территории Саратовской области.

Исследования проводились в мае-июле 2012 г. Материалом для микробиологических исследований послужили бескрылые самки смородиновой тли (*Aphis schneideri* В.), собранные с их основного кормового растения – чёрной смородины в окрестностях г. Саратова.

Бактериальная обсеменённость насекомых в количественном отношении была относительно стабильна (104-106 КОЕ в пробе), однако видовой состав бактерий-ассоциантов сильно варьировал. Индекс общности видового состава микробоценоза смородиновой тли в мае и в июне составил 27%, в июне и июле – 18%. Насекомые, исследованные в мае и июле, общих видов бактерий не содержали.

В течение сезона было отмечено доминирование нескольких видов. Вид, доминировавший в предыдущие месяцы, в последующие либо не выделялся совсем, либо выделялся в значительно меньшем количестве. Так, в мае наиболее часто встречающимися ассоциантами тли были *S. plymuthica* В. *solis*, *B. horti* и *B. pumilus*. В июне доминировали *B. thuringiensis* и *B. pumilus*. В июле наиболее высокие индексы встречаемости имели *B. thuringiensis*, *S. maltophila* и *B. horikoshii*.

Для более детального изучения процесса смены доминанта были проведены ежедневные исследования микробоценозов тлей, снимаемой с одного и того же кормового растения в течение 10 дней. Исследования первых проб выявили доминирование в микробоценозе смородиновой тли вида *B. pumilus*. Стабильность доминанта сохранялась в течение первых шести дней, но, уже начиная с пятого дня, в большинстве проб преобладающими видами становились *B. horikoshii* и *S. maltophila*, которые постепенно становились доминирующими видами. Смена доминанта может быть связана с появлением нового партеногенетического поколения тли. Отродившиеся личинки начинали питаться, и их пищеварительный канал заселяли микроорганизмы, находившиеся в этот период на поверхности и во внутренней среде кормового растения.

Таким образом, в микробоценозах исследованных видов тлей происходила ежемесячная смена доминирующих микроорганизмов. Периодичность смены доминанта совпадала с продолжительностью жизни одного партеногенетического поколения этих насекомых.

ВЫДЕЛЕНИЕ БАЦИЛЛЯРНОГО БАКТЕРИОФАГА С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ ДЕЙСТВИЯ ИЗ ЧЕРНОЗЕМА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Гарифулина К.И., Ульянова В.В., Шах Махмуд Раихан

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

kamila.garifulina@mail.ru

Бактериальные штаммы приобрели множественную лекарственную устойчивость вследствие многолетнего применения антибиотиков. Актуален поиск альтернативы, так как разработка нового препарата антибиотика трудоемка и не всегда эффективна. В настоящей работе целью являлся поиск разнообразных бактериофагов грамположительной спорообразующей бактерии *Bacillus altitudinis*.

В качестве образцов, потенциально содержащих вирусы, были выбраны 5 почв из разнообразных экологических ниш Республики Татарстан Альметьевского района - почвы леса, поля, чернозема, городские чистые и нефтезагрязненные почвы. Предварительно культура бактерии *B. altitudinis* была проверена на наличие профага в геноме путем индукции умеренного фага. Отрицательный результат позволил использовать имеющуюся культуру бактерии *B. altitudinis* в качестве индикаторной.

Непосредственно выделение бактериофага происходило в процессе инкубирования образцов с индикаторной культурой, затем проводилось очищение, фильтрование, термо- и хлороформная обработка. Наличие бактериофагов проверялось при посеве модифицированным методом Грациа (для подсчета бляшкообразующих единиц в 1мл раствора - БОЕ/мл), их количество составило БОЕ/мл = $2,95 \times 10^6$.

Для определения спектра действия бактериофага проводился посев с другими индикаторными культурами. Выяснилось, что фаг действует на *B. cereus* (БОЕ/мл = $0,53 \times 10^2$), *B. subtilis* (БОЕ/мл = $2,2 \times 10^2$), *B. pumilus* (БОЕ/мл = $1,1 \times 10^2$). На *B. atrophaeus* действия не обнаружилось (БОЕ/мл = 0).

Подбор условия хранения природного бактериофага является важным фактором. Использовалось 5 вариантов - комнатная температура при свете, в темноте; в холодильнике, при +4 °С; в морозильнике, при -20°С и при -80°С. Опытные образцы в равном объеме и БОЕ/мл хранились 6 месяцев, далее произведен стандартный посев. Обнаружено, что при -80 °С количество бактериофагов в суспензии максимально, БОЕ/мл = $3,9 \times 10^3$. При +4°С БОЕ/мл = $3,18 \times 10^2$, в остальных случаях БОЕ/мл не обнаружено.

Для исследования генетического материала бактериофага осуществляли выделение его нуклеиновых кислот (НК). Максимальное количество вирусных НК было достигнуто на этапе выделения и осаждения ($E_{260}/мл = 429,0$).

Таким образом, выделенный нами объект *B. altitudinis* является бактериофагом с широким спектром действия, действующий не только на определенный штамм, но и на ряд представителей рода *Bacillus*. Он имеет широкие перспективы для дальнейшего применения в медицине и ветеринарии.

Авторы выражают глубокую признательность профессору Ильинской О.Н., доценту Вершининой В.В.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ МОДИФИКАЦИИ КЛЕТОК ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЛЕЙ - ХАОТРОПОВ

Гончаров Р.Г.¹, Мачулин А.В.², Шорохова А.П.², Поливцева В.Н.², Сузина Н.Е.²

¹ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет, Тула; ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН, Пушкино, Россия

suzina_nataliya@rambler.ru

Ранее было установлено, что воздействие солей-хаотропов на клетки грамположительных бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов не приводит к нарушению целостности их клеточных стенок, однако, предположительно, способно инициировать разрыхление и образование пор достаточно больших размеров, через которые происходит экстракция

внутриклеточного содержимого – белков, липидов, олигосахаридов и всех низкомолекулярных компонентов клетки [1].

Целью данной работы является проведение отбора на основании сравнительного анализа штаммов грамположительных ультрамикробактерий (УМБ) [2] и изучение особенностей ультраструктурной организации ДНК-содержащих гликопептидных контейнеров, полученных из клеток модельных штаммов при воздействии на них солями – хаотропами.

На основании сравнительного морфометрического анализа УМБ, выращенных на различных питательных средах, осуществлен отбор двух наиболее перспективных модельных штаммов грамположительных бактерий, принадлежащих к роду *Microbacterium* – штаммы NF7 и NF9. Отобранные модельные штаммы УМБ характеризовались высоким выходом мелких и сверхмелких клеток в экспериментально подобранных условиях лабораторного культивирования. Обработку клеток УМБ хаотропным агентом осуществляли по методу, описанному в работе [1]. При помощи методов световой и трансмиссионной электронной микроскопии проведен сравнительный ультраструктурный анализ клеток модельных штаммов УМБ до и после обработки солями-хаотропами. Показано, что в результате обработки солями-хаотропами цитоплазма клеток значительно просветлялась, клеточная стенка модельных УМБ сохраняла свою форму и целостность, и в ней удерживалась практически вся геномная ДНК. Таким образом, предложен метод получения клеток-микромумий, пригодных для дальнейшей разработки способа использования в качестве средств целевой доставки лекарственных препаратов. Основными преимуществами исследуемого объекта является малый размер клеток (~150-200 нм в диаметре), биологическая совместимость и нетоксичность в отношении клеток высших организмов.

Разработка универсальных наноразмерных носителей различных биологически активных веществ, которые не токсичны для живых макроорганизмов, является перспективным направлением в области биотехнологии и разработки средств адресной доставки лекарственных веществ в современной медицине.

Литература:

Дуда с соавт. Микробиология. 2004. Т.73. №3. сс. 406-415.

Сузина с соавт. Прикладная биохимия и микробиология. 2015. Т. 51. № 2. сс. 151-160.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ МИКОПЛАЗМ К ФТОРХИНОЛОНАМ: РЕЗИСТОМ *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII*

**Григорьева Т.Ю.¹, Медведева Е.С.^{1,2}, Музыкантов А.А.¹, Баранова Н.Б.^{1,2},
Синягина М.Н.², Булыгина Е.А.², Давыдова М.Н.¹, Шаймарданова Г.Ф.¹,
Чернова О.А.^{1,2}, Чернов В.М.^{1,2}**

¹ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН,

²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

redfox-house@mail.ru

Микоплазмы (класс *Mollicutes*) – тахителичные бактерии, многие из которых являются комменсалами, некоторые – возбудителями социально-значимых заболеваний, основными контаминантами клеточных культур и вакцинных препаратов. Решение проблемы контроля микоплазменных инфекций и контаминаций связывают с выявлением молекулярных основ оперативной адаптации микоплазм к антибиотикам, что предполагает определение и сравнительный анализ резистомов - совокупности генов и их продуктов, которые способствуют устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Ранее нами было показано, что адаптация *Acholeplasma laidlawii* - основного контаминанта клеточных культур и возбудителя фитомикоплазмозов - к фторхинолонам связана с модуляцией секреции экстраклеточных везикул и везикулярного транспорта бактерии. Характеристика различающихся по чувствительности к ципрофлоксацину штаммов *A. laidlawii* в отношении везикуляции, эффлюкса антибиотика, а также геномного профиля явилась целью данной работы.

В результате наших исследований с помощью методов АСМ, ТЭМ, RT-PCR, qPCR было установлено, что штаммы *A. laidlawii*, различающиеся по чувствительности к ципрофлоксацину, имеют также различия в отношении уровня везикуляции, скорости

выведения антибиотика и экспрессии генов гомологов ABC-транспортеров, ассоциированных с эффлюксом фторхинолонов. При этом везикулы, секретлируемые клетками всех сравниваемых штаммов, содержат копии нуклеотидных последовательностей, кодирующих мишени фторхинолонов (ДНК-гираза и ДНК-топоизомераза). Методом пиросеквенирования нами было выполнено геномное профилирование трех штаммов микоплазмы - исходного лабораторного, а также проявляющих повышенную устойчивость и повышенную чувствительность к ципрофлоксацину. В геномах, различающихся по чувствительности к антибиотику, штаммов *A. laidlawii* нами были зарегистрированы мутации не только в генах целевых белков фторхинолонов, но и многих других генах, в том числе тех, мутации в которых регистрируются и у других микроорганизмов при адаптации к антибактериальным препаратам. Полученные данные могут свидетельствовать о существенной реорганизации клеточных процессов в клетках микоплазм при формировании устойчивости к фторхинолонам и наличии общих элементов в резистомах разных бактерий, идентификация которых актуальна для разработки принципиальной новой системы контроля инфекций.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ 14-04-00883, а также гранта Президента РФ (МК–3823.2023.4).

ИНДУКЦИЯ НЕКУЛЬТИВИРУЕМОГО СОСТОЯНИЯ БАКТЕРИЙ ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ

Данилова М. А.

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

ritdanilov@yandex.ru

К настоящему моменту хорошо известны признаки, характеризующие клетки, перешедшие в некультивируемое состояние, но остается не определена реакция плазматической мембраны на переход. Вместе с тем в мембрану интегрированы важные структуры (сенсоры, рецепторы, ферменты), регулирующие весь клеточный метаболизм. Функциональная активность мембранных структур зависит от ее текучести (микровязкости). Оценка физических изменений состояния плазматической мембраны при переходе в некультивируемое состояние может быть полезна при обсуждении индукции покоящегося состояния бактерий и возможном выходе из него.

В связи с вышесказанным, целью данной работы являлась оценка способности ионов металлов индуцировать некультивируемое состояние бактерий на примере клеток *Micrococcus lysodeikticus*.

Оценивали влияние ионов Cu^{2+} и Ca^{2+} в концентрации 20, 50, 100, 200 мМ на жизнеспособность бактерий при стандартном количестве клеток в 1 мл суспензии. В качестве источника ионов металлов использовали растворы CuSO_4 и CaCl_2 .

В ходе работы были применены методы проточной цитометрии, количественного определения алкилрезорцинов, а также методы электронной микроскопии. Для определения процентного соотношения живых и мертвых клеток, работали на проточном цитометре BD FACSCanto (США) с программным обеспечением FACSDiva.

Нами было показано, что в диапазоне концентраций 100-200 мМ Cu^{2+} и Ca^{2+} отмечается изменение соотношения живых клеток и колониеобразующих единиц *Micrococcus lysodeikticus* в сторону уменьшения последних. Было показано, что повышение концентрации ионов меди и кальция приводят к увеличению содержания алкилрезорцинов в клеточной суспензии, что является показателем перехода клеток в некультивируемое состояние. Трансмиссионная электронная микроскопия выявила изменения морфологии клеток микрококка в покоящемся состоянии: уменьшение размеров, зернистость поверхности, четкое отделение клеточной стенки от содержимого клетки.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМИДЫ pPA21A *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*

Дюбо Ю.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

yuliya.dyubo@mail.ru

Pectobacterium atrosepticum – граммотрицательные энтеробактерии, способные вызывать заболевания картофеля – "черную ножку" и мягкую гниль. Штамм 21A, в отличие от большинства других *P. atrosepticum*, индуцирует реакцию сверхчувствительности у растений табака *Nicotiana tabacum*, которые не являются для него естественным хозяином. При секвенировании генома *P. atrosepticum* 21A было обнаружено два репликона – хромосомный и плазмидный (коды доступа в GenBank CP009125 и CP009126). Последовательности хромосом *P. atrosepticum*, присутствующие в GenBank, имеют очень высокое сходство и практически идентичны по содержащемуся в них набору генов (за исключением генов транспозонов и бактериофагов), в связи с чем, мы предположили, что способность бактерий штамма 21a вызывать реакцию сверхчувствительности, связана именно с наличием плазмиды.

Плаزمида pPA21A имеет размер 32444 н.п. и присутствует в клетке в количестве 3-4 копий. Стабильное поддержание плазмиды обеспечивается системой токсин-антитоксин. Чуть меньше половины последовательности плазмиды занимают гены, кодирующие компоненты секреторной системы IV типа. Такие секреторные системы чаще всего отвечают за перенос плазмид между клетками, в связи с чем, планируется проверка способности pPA21A к конъюгативному переносу. Имеется также вероятность участия этой секреторной системы в доставке факторов вирулентности в клетки организма-хозяина, однако генов, кодирующих потенциальные секреторируемые субстраты этой транспортной системы, в плазмиде не обнаружено. Единственным очевидным кандидатом на роль кодируемого плазмидой фактора вирулентности является белок, имеющий сходство с фосфолипазами и эндонуклеазами, имеющий к тому же SecA-зависимый сигнальный пептид.

Следует также отметить присутствие на плазмиде генов трех транскрипционных регуляторов, один из которых имеет сходство с H-NS (и является одним из трех HNS-подобных белков этих бактерий) и может иметь отношение к транскрипционному контролю факторов вирулентности.

Для облегчения дальнейшей работы мы маркировали плазмиду путем инсерции гена гентамицинрезистентности в межгенный участок, что позволяет контролировать присутствие этой плазмиды в клетках. Планируется проверка возможности конъюгативного переноса маркированной плазмиды и оценка ее влияния на вирулентность "стандартных" штаммов *P. atrosepticum*, не вызывающих реакции сверхчувствительности у растений *N. tabacum*.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ БИОТЕСТОВ

Ефремова Л.В.

ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

lv.efremova@yandex.ru

Наноструктурированные аллотропные соединения углерода (графен, нанотрубки, нановолокна, фуллерены) в настоящее время рассматриваются в качестве перспективных средств для решения широкого спектра задач в биологии и медицине. Важным аспектом является создание на их основе нового поколения антибактериальных препаратов, в том числе способных преодолевать резистентность микроорганизмов к известным антибиотикам и дезинфектантам.

Целью настоящего исследования явилось исследование антибактериальной активности представительного спектра коммерчески доступных и лабораторных образцов углеродных наноматериалов (УНМ) с различным типом структурной организации и характером функционализации, а также выявление механизмов данного вида биологической активности.

Методология проведенных исследований заключалась в определении воздействия УНМ на интенсивность биолюминесценции бактериальных биосенсоров с конститутивным (англ. – light

off) и индуцибельным (англ. – light on) типами свечения. В первом случае подобный подход позволял получить представление о скорости и выраженности антибактериального эффекта, а во втором – зафиксировать ответные стрессовые реакции бактериальных клеток на воздействие УНМ.

Идентифицированы основные физико-химические характеристики УНМ, определяющие их антибактериальную активность. Для углеродных нанотрубок, нановолокон и производных графена показана зависимость данного варианта биоактивности от смачиваемости их поверхности и определяемой этим дисперсности водных суспензий. Для производных фуллерена продемонстрировано значение характера функционализации, определяющего поверхностный заряд УНМ.

Показана зависимость реакции микроорганизмов на воздействие УНМ от их экологических особенностей, строения клеточной стенки и физиологического состояния. Установлено, что контакт УНМ с бактериальной поверхностью не сопровождается нарушением целостности клеток или развитием каких-либо стрессовых реакций (окислительный стресс, повреждение белков, повреждение ДНК). Полученные данные в качестве основного механизма антибактериального действия УНМ позволяют назвать нарушение энергетического обеспечения бактериальных клеток-мишеней, наиболее быстро и чувствительно выявляемого в реакции ингибирования бактериальной биолюминесценции.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (проект 15-04-04379).

БАКТЕРИАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЗАПАДНОГО СКЛОНА Г. ЭЛЬБРУС

Жарченко Н.П.^{1,2}, Булат С.А.¹, Калашников А.А.¹

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, Гатчина;

²ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

suktoria@gmail.com

Благодаря молекулярно-генетическим исследованиям микробных сообществ, представления о границах жизни изменились. Изначально считавшийся практически стерильным снежный покров высокогорных и полярных ледников оказался пригодным для жизни целого ряда микроорганизмов. Изучение микробного разнообразия снежного покрова высокогорных ледников позволяет очертить лимитирующие жизнь границы и факторы. Данное исследование позволяет выявить новых холодолюбивых экстремофилов, представляющих интерес для биотехнологии.

Цель данной работы состояла в изучении микробного разнообразия в базальном слое ледника западного склона г. Эльбруса с помощью молекулярно-генетических методов.

Образцом для изучения стала базальная часть керна льда ледника западного склона г. Эльбрус, контролем стала вода, используемая при деконтамиции образца.

Выделенная из льда и воды ДНК была амплифицирована с помощью трех праймерных систем представленных вырожденными праймерами (338Fb com2mod на область V3-V5 генов 16S рPHK; 515mF и 1054Rb на область V4-V6 генов 16S рPHK; 1492R и модифицированный праймер w001: 5' – AAGAGTTTGATCMTGGCT -3', где M=A:C на полноразмерный ген. После этого было произведено клонирование ДНК в компетентных клетках *E.coli*. Полученные клоны 6 библиотек в ходе рестрикционного анализа были разбиты на группы. Представители каждой группы были отправлены на секвенирование. Полученные нуклеотидные последовательности были выравнены и идентифицированы.

В результате исследования 6 геновых библиотек выделено 15 фило типов, 9 из которых были определены как контаминанты. Остальные филопы относятся к 3 филумам: *Betaproteobacteria* (*Undibacterium oligocarboniphilum*, *Ralstonia* sp., *Curvibacter gracilis*), *Gammaproteobacteria* (*Pseudomonas toyotomiensis*, *Ewingella Americana*), *Actinobacteria* (*Rhodococcus qingshengii*). Для определения родства фило типов, выделенных из образца базальной части керна льда, с наиболее близкими опубликованными и культивируемыми нуклеотидными последовательностями из GenBank было построено филогенетическое дерево с использованием метода Maximum Parsimony. Статистическую оценку достаточности размера библиотеки клонов проводили путем расчета покрытия по индексу Шеннона – Уивера, она показала, что

покрытие библиотек составило более 95 процентов. В дальнейшем планируется изучение микробного разнообразия в других горизонтах керна льда западного ледника г. Эльбрус.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ГИФОСФЕРЫ, ПЛОДОВЫХ ТЕЛ БАЗИДИОМИЦЕТОВ РОДА *AMANITA* И КОНТРОЛЬНОЙ ПОЧВЫ

Загрядская Ю. А.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

1989july@mail.ru

В лесных биоценозах биомасса мицелия базидиальных грибов занимает второе место после биомассы растений и доминирует в почве в течение значительной части вегетационного периода. Мицелий базидиальных грибов покрывает от 70 до 100% площади под пологом леса и формирует вокруг себя специфическую зону – гифосферу, которая, по аналогии с ризосферой растений, сильно отличается от свободной почвы по физико-химическим свойствам и составу микроорганизмов. В литературе практически отсутствуют данные по бактериальным сообществам гифосферы и плодовых тел базидиомицетов – типичных представителей лесного биоценоза в природных условиях. Поэтому целью работы была сравнительная характеристика бактериальных сообществ гифосферы, плодовых тел видов базидиомицетов – типичных представителей лесного биоценоза (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita pantherina*) и контрольной почвы.

С помощью прямого микроскопического метода (окрашивание акридином оранжевым) показано, что общая численность бактерий в плодовых телах базидиомицетов была выше, чем в гифосфере и контрольной почве и изменялась от 4,2 до 20 млрд. клеток/г, и только у *Amanita muscaria* составляли 196,7 млрд. клеток/г, что связано с тем, что плодовое тело находилось на поздней стадии разложения. А общая численность бактерий в гифосфере большинства видов базидиомицетов была ниже, чем в контроле и изменялась от 4,4 до 21 млрд.кл/г.

С помощью метода посева было показано, что в плодовых телах всех видов базидиомицетов доминировали грамотрицательные бактерии, доля которых составляла 98,7-100%. В гифосфере наблюдалось снижение доли грамотрицательных бактерий по сравнению с плодовыми телами в 2-10 раз, а в контрольной почве – их доля была еще ниже, чем в гифосфере. Изучение структуры сапротрофных бактериальных комплексов выявило, что в плодовых телах базидиомицетов доминируют бактерии рода *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Plesiomonas*; в гифосфере – роды *Pseudomonas*, *Streptomyces* и *Escherichia*; в контрольной почве – роды *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* и *Rhodococcus*.

ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТОВ *METHYLOBACTERIUM EXTORQUENS* ПО ГЕНАМ ПГБ-СинтАз (phaC)

Замахаева С.А., Екимова Г.А., Федоров Д.Н.

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

²ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт,

Пущино, Россия

s.zamakhava@ya.ru

Полигидроксibuтират (ПГБ) – биоразлагаемый, биосовместимый и термопластичный биополимер. ПГБ синтезируют природные и генетически модифицированные штаммы при лимите по одному из конструктивных элементов (азоту, кислороду, фосфору и т.д.) и избытке источника углерода. Среди метилотрофных продуцентов ПГБ наиболее известны представители рода *Methylobacterium* с сериновым путем C₁-метаболизма, способные накапливать 40–80% ПГБ от сухой биомассы при росте на чистом метаноле. Синтез ПГБ у метилобактерий тесно сопряжен с C₁-метаболизмом, поскольку первые два фермента биосинтеза ПГБ, β-кетотиолаза (PhaA) и NADP⁺ - зависимая ацетоацетил-КоА-редуктаза (PhaB), являются частью этилмалонатного цикла регенерации глиоксилата в сериновом пути. У

Methylobacterium extorquens гены *phaA* и *phaB* кластеризуются в хромосоме в одном опероне, тогда как ген *phaC*, кодирующий ПГБ-синтазу, локализован отдельно и, по-видимому, регулируется независимо от генов *phaAB*. В геномах представителей рода *Methylobacterium* нами обнаружены множественные гены ПГБ-синтаз. Для оценки роли каждого из ферментов, закодированных в одном геноме, и их влияния на метаболизм метилобактерий, необходимо получить мутантов по генам ПГБ синтаз.

Для получения мутантов *M. extorquens* DM4 по генам *phaC1* и *phaC3* при помощи ПЦР амплифицировали фрагменты ДНК, содержащие полные последовательности генов *phaC* и клонировали их в мобилизуемом суицидальном векторе pK18mob. Затем вместо центральной части генов были клонированы кассеты устойчивости к гентамицину и тетрациклину. Полученные векторы p7A-114 и p7A-116 переносили в клетки штамма DM4 при помощи конъюгации со штаммом *E. coli* S17-1, несущим соответствующие плазмиды. Мутантов метилобактерий с делециями в генах *phaC* отбирали на селективных средах с антибиотиками и метанолом. Обнаружили, что скорость роста *M. extorquens* DM4 Δ *phaC1* на метаноле значительно ниже, чем у дикого штамма и мутанта *M. extorquens* DM4 Δ *phaC3*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-01520-а.

ОЦЕНКА ВЫЖИВАЕМОСТИ БАКТЕРИЙ РОДА *LACTOBACILLUS* В УСЛОВИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Зарипова А.Р.

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

forever-nuts@yandex.ru

Бактерии рода *Lactobacillus* являются важным компонентом микрофлоры организма человека. Они обладают антагонистической активностью в отношении патогенных микроорганизмов и выполняют иммуномодулирующую функцию. Их состав и численность зависят от качества продукта питания. Чем больше лактобацилл в продукте, тем больше их будет в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), однако не все бактерии под действием желудочного сока способны сохранять свою активность, поэтому важно проверять их устойчивость в условиях, имитирующих среду пищеварительного тракта.

Целью работы стало определение соотношения физиологически активных (живых) и неактивных (мертвых) клеток лактобацилл в кисломолочных продуктах методом проточной цитометрии. В ходе эксперимента микроорганизмы инкубировали в среде, симулирующей желудочный сок, что позволило оценить качество продуктов питания.

Объектами исследования стали следующие кисломолочные продукты: ряженка «Домик в деревне», питьевой йогурт «Тёма», питьевой йогурт «Вамин», ряженка «Наш продукт», питьевой йогурт «Простоквашино», «Актимель», «Айран», «Гастрофарм», содержащие бактериальные штаммы *Lactobacillus sp.* В качестве модельной среды использовали 0,1M натрий-фосфатный буфер, pH 7,4.

В результате было определено процентное отношение мертвых клеток к общему числу клеток в образце. В соответствии с полученными данными, все исследуемые продукты можно условно разделить на три группы: высокоэффективные (ряженка «Домик в деревне» - 26,6%, питьевой йогурт «Тёма» - 30,0%), средней эффективности (питьевой йогурт «Вамин» - 40,9%, ряженка «Наш продукт» - 50,4%, питьевой йогурт «Простоквашино» - 58,2%) и недостаточно эффективные («Актимель» - 81,7%, «Айран» - 90,23%, «Гастрофарм» - 97,8%), что позволяет судить о качестве продуктов и степени их влияния на микрофлору кишечника

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ПРИЗНАКОВ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ВОДЫ

Иванчина Н.В., Фаррахова Ф.Р., Гарипова С.Р.

ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

farrahova-florida@rambler.ru

В настоящее время микробиологические исследования воды (питьевой, природной и сточной) осуществляют по наличию индикаторных микроорганизмов: общие колиформные бактерии (ОКБ) и термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ). Данные группы микроорганизмов выделены условно внутри семейства *Enterobacteriaceae* по признаку ферментации лактозы при температуре инкубации 37°C и 44°C соответственно. При этом в группе ОКБ могут быть обнаружены различные виды микроорганизмов, принадлежащие к семейству *Enterobacteriaceae*, такие как *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.* и другие. Индикаторная группа ТКБ состоит в основном из бактерий *Escherichia coli*, характеризующих фекальное загрязнение воды. Однако на селективной питательной среде Эндо, используемой на этапе выделения бактерий, данные виды микроорганизмов имеют сходные с друг другом культурально-морфологические признаки. Эти признаки определены методическими указаниями по контролю качества вод, устанавливающими, что основными характеристиками колоний должны являться малиновый цвет, слизистость и круглая форма колоний с ровным краем. Все другие нетипичные колонии, выросшие на среде Эндо из учета исключаются. Колонии, соответствующие данным морфологическим характеристикам, подвергают дальнейшей идентификации, могут определяться как ОКБ и ТКБ.

Однако было замечено, что зачастую колонии нестандартной формы, при дальнейшей идентификации, могут определяться как ОКБ и ТКБ. Так, в исследованиях природной и сточной воды колонии с неровным краем были отнесены к колиформам в 29% и 15% случаев соответственно, колонии с единичным вытянутым отростком - в 39% и 86% случаев соответственно. Данный факт свидетельствует о несовершенствовании методических подходов к идентификации индикаторных микроорганизмов, при этом существенно снижается качество анализов всех типов вод, что может являться источником возникновения эпидемической безопасности.

НИТРАТ – И ЖЕЛЕЗОВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ БАКТЕРИИ ИЗ ХОЛОДНЫХ МЕСТ ОБИТАНИЯ

Калинина А.В.¹, Дамбинова Е.Ц.², Захарюк А.Г.³

¹ФГБОУ ВПО Вятский государственный университет, Киров; ²ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ; ³ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино, Россия

anastasiya.1711@inbox.ru

Азот и железо относятся к элементам с переменной валентностью, что во многом определяет их огромную роль в геохимических процессах в природе. В восстановлении железа и нитратов важнейшая роль принадлежит микроорганизмам. Между тем процессы микробной нитрат- и железоредукции и микроорганизмы, которые осуществляют эти процессы в низкотемпературных эконивах, практически не изучены. Целью настоящей работы было изучение психрофильных бактерий, восстанавливающих нитрат и соединения железа в пробах донных отложений озера Байкал, отобранных с глубины 409м, где температура воды не поднимается выше 4°C, и в образцах придонного ила холодного минерального источника Буксыхен (Бурятия), характеризующегося температурой 3-6°C.

Из проб осадков исследованных экосистем было получено семь накопительных культур бактерий, которые восстанавливали различные формы железа (III) с ацетатом и формиатом в качестве доноров электронов при температуре культивирования 7 и 15°C. На 30 сутки инкубации количество восстановленного железа в исследуемых накопительных культурах варьировало в широких пределах от 0.12 до 3.65 мМ. Установлено, что количество

образованного железа (II) в накопительных культурах зависело от температуры культивирования и донора электронов. Максимальная концентрация ионов Fe(II) (3.65 мМ) зафиксирована в накопительной культуре В-G1, полученной из образца ила холодного источника Буксыхен и выращенной при 15°C с аморфной гидроокисью железа в качестве акцептора электронов и формиатом в качестве донора электронов. В ходе работы из отдельных колоний было получено пять штаммов психрофильных железовосстанавливающих бактерий (ЖВБ), два из которых восстанавливали железо при 7°C. Все штаммы ЖВБ имели схожую морфологию и были представлены мелкими подвижными не спорообразующими палочками.

В результате проведенных исследований из образцов придонного ила холодного источника Буксыхен удалось выделить пять штаммов психрофильных денитрифицирующих бактерий. Новые денитрификаторы восстанавливали нитрат с ацетатом в качестве донора электронов при температуре культивирования 15°C. Штаммы отличались формой, цветом и размером колоний, а также морфологией клеток.

Таким образом, полученные результаты показали, что в исследованных холодных местах обитания активно функционирует микробное сообщество, восстанавливающее нитрат и железо (III). Частично охарактеризованы десять новых штаммов психрофильных нитрат- и железовосстанавливающих бактерий, установлено их таксономическое положение.

ПРАКТИЧЕСКОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВИРУСОВ

Кирыков В.С.¹, Катаев Я.И.²

¹ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, ²МАУ «Клинико-диагностический центр», Екатеринбург, Россия

kiryakov.victor@yandex.ru

Методы определения последовательности нуклеиновых кислот (секвенирование) открыли практической медицине новый спектр возможностей в диагностике различных инфекционных заболеваний. Среди существующего спектра методов секвенирования одним из самых точных и быстрых является «Sequence by synthesis», который и используется нами. Он основывается на пошаговом синтезе комплементарной цепи, состоящей из искусственно созданных нуклеотидов с флуоресцентной меткой, которая испускает свет определенной длины волны при возбуждении лазером. Это позволяет с высокой точностью определить первоначальную структуру ДНК/РНК.

Применение секвенирования в медицине может позволить решить широкий спектр проблем, которые до этого были либо нерешаемы, либо крайне сложны. Например, быстрое определение штамма возбудителя при минимальных концентрациях одного в пробе, что позволяет решить актуальную проблему выявления источника инфекции, уточнить его «географическую Родину». Или выявление ответственных за резистентность участков последовательности нуклеиновой кислоты бактериального возбудителя к определенным группам антибиотиков.

Полученная на секвенаторе (прибор для секвенирования) первичная структура нуклеиновой кислоты требует последующей обработки и сравнения с уже известными последовательностями различных инфекционных возбудителей, и чтобы упростить, а также упорядочить этот процесс, были созданы специализированные базы данных, содержащие эти последовательности. Такие базы можно разделить на национальные и международные, такие как «DATABASES ON MEDICINE AND MOLECULAR BIOLOGY (<http://www.meddb.info/>)». К сожалению, среди них отсутствует российская национальная база, что вынуждает нас использовать международные, которые, кроме того, не имеют обширной информации о «российских штаммах», однако в различных научных центрах нашей страны проводятся работы по созданию своих баз данных.

В настоящее время в РФ метод секвенирования, в большинстве своем, используется в научных целях, однако он имеет огромный потенциал в практической медицине. В связи с этим встает проблема развития методологии и использования метода секвенирования в больницах и диагностических центрах. Что и проводится нами в МАУ «Клинико-диагностический центр» г. Екатеринбурга. Поэтому для обширного использования метода, необходимо произвести работу

по созданию всероссийской базы данных, чтобы систематизировать полученную по всей стране информацию в едином центре, где будет производиться ее обработка и публикация.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСА ХИТОЗАН-ИОД В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ПРО- И ЭУКАРИОТ

Ковалёва Я.О., Шуршалова Н.Ф., Зудина И.В., Белякова О.А.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия

yana-kovaleva94@mail.ru

Создание различных БАДов и лекарственных средств пролонгированного действия является одной из наиболее актуальных задач современности. Распространенным способом получения таких препаратов является включение активного вещества в матрицу из полимера. В настоящем исследовании в качестве биологически активного вещества был выбран иод, поскольку проблема устранения иододиффицитных состояний остается социально значимой. В роли матрицы выступил полимер хитозан (ХТЗ), который обладает целым рядом полезных свойств, таких как: способность к комплексообразованию, биосовместимость, высокая физиологическая активность. Цель работы состояла в выявлении возможной цитотоксичности у комплекса хитозана с иодом (Chito·J) в отношении прокариотических и эукариотических клеток.

Объектом исследования явился 0,1% водный раствор препарата Chito·J. Для получения Chito·J использовали образцы ХТЗ со средневязкостной молекулярной массой 39 кДа и степенью деацетилирования 79 мольн.% (ЗАО «Биопрогресс», РФ), а также химически чистый кристаллический иод (Panreac Química, S.A.). В качестве растворов сравнения использовали водные растворы ХТЗ и иода, соответствующих значению концентраций для модифицированного образца ХТЗ. Цитотоксичное действие полученных препаратов на прокариотические клетки определяли на модели штамма *Escherichia coli* 113-13 путем определения минимальной ингибирующей концентрации. О токсичности растворов в отношении клеток эукариот судили по скорости адгезии и пролиферации клеток МА-104 после добавления препаратов в среду роста.

В результате проведенных исследований было установлено, что полное угнетение роста *E. coli* 113-13 наблюдалось в бульоне МПБ, содержащем растворы иода и его комплекса с хитозаном в концентрации не ниже 0,025%. Добавление к питательной среде растворов ХТЗ в концентрациях от 0,1% и ниже практически не влияло на рост культуры. Адгезия и пролиферация клеток МА-104 в питательной среде DMEM, дополненной 0,1%-ми растворами ХТЗ и Chito·J, происходили в те же сроки, что и контроле. В то же время, в питательной среде, дополненной 0,1%-м раствором иода, рост культуры МА-104 отсутствовал. Таким образом, водные растворы комплекса хитозана с иодом в концентрации ниже 0,025% не проявляют цитотоксичность в отношении про- и эукариотических клеток.

МИМЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ V3-ПЕТЛИ HIV-1 gp120 В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО СРЕДСТВА АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Колобынина К.Г.¹, Шмидт Б.², Рорхофер А.², Гросс А.³, Айхлер Ю.³

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

²Университет Регенсбурга, Германия; ³Университет Эрлангена-Нюрнберга, Германия

korenaticat@mail.ru

Обязательным этапом проникновения вирусной частицы HIV-1 (ВИЧ-1, вирус иммунодефицита человека) в клетку является связывание белка оболочки вируса gp120 со специфическим CD4 рецептором на поверхности CD4+ клеток, таких как Т-лимфоциты, моноциты, макрофаги, дендритные клетки. Процесс взаимодействия вируса и проникновение его в клетку на данный момент хорошо исследован и описан в литературе. К настоящему времени разработаны противовирусные препараты, ингибирующие каждый этап репликации вирусной частицы, так называемая комбинированная противовирусная терапия, однако клинически

не подтверждено существование средства, способного успешно предотвратить связывание основного сайта gp120 V3-петли с рецептором CD4. Было выдвинуто предположение, что синтетические короткие пептиды, миметирующие линейные или четвертичные структуры сайтов взаимодействия вирус-клетка, потенциально способны предотвратить связывание и проникновение вируса. Научной группой университета Эрлангена-Нюрнберга (Германия) были синтезированы короткие эпитопные, миметирующие структуру V3-петли, и паратопные пептиды, миметирующие структуру антител широкого спектра действия. Поскольку эти пептиды могут оказывать различное влияние на инфекцию вируса, необходимо исследовать их эффективность.

Цель работы – провести тестирование синтетических эпитопных пептидов, миметирующих структуру V3-петли белка gp120 оболочки вируса ВИЧ-1, на способность вызвать иммунный ответ на инфекцию вируса.

На способность вызывать иммунный ответ и активность антител широкого спектра действия в мышцах были исследованы три типа синтетических пептидов, миметирующих три отличающиеся по строению короткого участка V3-петли HIV-1 HxB2. Для этой цели была использована гибридная клеточная культура CEMx174-SEAP, содержащая ген щелочной фосфатазы человека под контролем вирусной *ltr* последовательности. Инфицировали клетки этой культуры вирусом HIV-1 HxB2 в присутствии сывороток мышей, вакцинированных эпитопными пептидами, миметирующими V3-петли вирусной частицы. Инфицирование проводилось в нескольких разведениях. Уровень инфекции коррелировал с уровнем экспрессии гена щелочной фосфатазы, что позволило использовать SEAP-тест, который дал возможность количественно измерить уровень инфекции вируса в клеточной культуре CEMx174-SEAP с помощью хемолюминесценции. Эксперимент был проведен в нескольких повторностях.

Статистическая обработка результатов выявила значимый уровень нейтрализующей активности в клеточной культуре.

Работа выполнена на базе Института медицинской микробиологии и гигиены университета Регенсбурга, Германия.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АКТИНОБАКТЕРИЙ ВИДА *RHODOCOCCUS WRATISLAVIENSIS* – ДЕСТРУКТОРОВ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Корсакова Е.С., Плотникова Е.Г.

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

korsakovaekaterina08@gmail.com

Из образцов техногенно-минеральных образований соледобывающего предприятия ОАО «Уралкалий» (г. Березники, Пермский край), а также ризосферы растений, произрастающих в непосредственной близости от солеотвалов (г. Соликамск, Пермский край) выделено в чистую культуру пять штаммов-деструкторов моно(поли)ароматических углеводов (обозначение штаммов: КТ112-7, КТ723, ВО1, 9RN1-12, 9RN9-111), сходных по морфологическим, физиологическим и биохимическим характеристикам. У всех штаммов наблюдали активный рост на нафталине, бифениле, *орто*-фталевой и бензойной кислотах при содержании 30 г/л NaCl в среде культивирования.

После проведения филогенетического анализа исследуемых изолятов, основанного на определении нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, было показано, что все штаммы близкородственны бактериям вида *Rhodococcus wratislaviensis*. Сравнение фингерпринтов, полученных методом ПЦР повторяющихся ВОХ-элементов, показало, что все изоляты отличаются между собой лишь минорными фрагментами.

В клетках каждого из исследуемых штаммов *R. wratislaviensis* методом пульс-электрофореза были обнаружены плазмиды, размер которых варьировал от 170 т.п.н. до 470 т.п.н. При этом в клетках штаммов 9RN1-12 и 9RN9-111, изолированных из ризосферы растений, произрастающих на техногеннозасоленных почвах, выявлено по две плазмиды размером 170 т.п.н. и 290 т.п.н.

У всех исследуемых штаммов были обнаружены гены, кодирующие α -субъединицу нафталин и бензоат диоксигеназ, а также *phtB*-гены, кодирующие фталат 3,4-дегидрогеназу.

Таким образом, на территории солеразработок (г. Березники, г. Соликамск, Пермский край) выявлены бактерии *R. wratislaviensis*, способные разлагать различные ароматические углеводороды. Показана генетическая гетерогенность исследованных штаммов и выявлены ключевые гены деструкции ароматических соединений.

Работа поддержана грантом РФФИ-Урал №13-04-96049 р_урал_a и грантом CRDF Global – УрО РАН (Грант. согл. № RUB2-7100-PE-13).

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА БАКТЕРИЙ *PROVIDENCIA STUARTII* ПРИ РОЕНИИ

Курмашева Н.Р., Евтюгин В.Г., Марданова А.М.

Институт фундаментальной медицины и биологии, ФГАОУ ВПО Казанский
(Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

naziya1993@mail.ru

Бактерии способны к различным типам подвижности: роению по поверхности твердой среды, плавающей подвижности в жидкой среде, твитчингу и др. Наиболее полно роение изучено для бактерий рода *Proteus*. Показано, что и другие бактерии способны к роению. Например, бактерии родов *Serratia*, *Pseudomonas*, а также *E.coli* способны роиться, однако требуют для этого более мягкой среды и часто присутствия дополнительных компонентов. Известно, что роение бактерий рода *Proteus* сопряжено с дифференцировкой клеток из коротких вегетативных в длинные «швермерные», которая подвергается сложной регуляции. В настоящее время нет данных о способности бактерий р. *Providencia* к роению и сопряженной с этим процессом дифференцировке клеток.

Целью работы было сравнительное изучение морфологии клеток *Providencia stuartii* в процессе роения с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

В работе использовали штамм *P. stuartii*, выделенный от урологического больного. Штамм был идентифицирован по гомологии 16S рПНК (99% гомологии со штаммом *P. stuartii* MRSN 2154). Для исследования способности бактерий к роению использовали среду LB, содержащую агар в концентрации от 0.5 до 2%. Морфологию клеток на разных стадиях развития исследовали, окрашивая препараты бактерий по Граму и методом СЭМ (Carl Zeiss Merlin, Германия). Образцы бактерий, отобранных из жидкой среды и различных участков роящейся колонии, фиксировали в 1% глутаровом альдегиде, с последующим обезвоживанием и напылением золота и палладия.

Установлено, что оптимальной плотностью среды для роения бактерий *P. stuartii* является 0.5-0.6% агар, на 0.8% агаре скорость роения существенно снижается. Для исследования морфологии роящихся клеток использовали 0.6% агар. Микроскопировали бактерии из разных участков колонии после 16 часов роста, а также планктонную культуру. На образце из края колонии в поле зрения обнаружены длинные клетки. СЭМ позволила сравнить морфологию клеток роящейся колонии и планктонной культуры. Клетки из планктонной культуры и центра колонии достигали в длину 1.5 мкм. В препаратах бактерий из края колонии обнаружены длинные клетки (7-10 мкм), количество которых достигало 1-2%. Таким образом, показано, что при роении бактерии *P. stuartii* способны к клеточной дифференцировке с образованием клеток по типу «швермеров». Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной КФУ для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 14-83).

ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РОСТ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ АКТИНОБАКТЕРИЙ

Лень Н.В., Алексеенко К.П., Волченко Н.Н., Самков А.А.

ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

len.nikolaj@mail.ru

В естественных условиях процессы самоочищения происходят очень медленно. Единственным максимально эффективным методом нейтрализации нефти и нефтепродуктов является микробиологический, он обеспечивает обезвреживание углеводородных поллютантов

с трансформацией в безопасные неорганические соединения, поэтому ведется поиск новых методов стимулирования роста.

Цель нашей работы состояла в оценке влияния физико-химических факторов на накопления биомассы нефтеокисляющего микроорганизма *Rhodococcus erythropolis* B2 из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии КубГУ. Нами рассматривались такие факторы как изотопный состав воды, наличие (ГМФ-бульон) и различных источников азота в среде.

На первом этапе исследований опыт проводился в разных температурных условиях при температуре равной $t_1 = 30-33$ °C и $t_2 = 20-23$ °C, где среда на основе легкой воды (57 ppm) является опытом, а на основе обычной воды – контролем. В результате эксперимента нами было установлено, что легкая вода оказывала положительное влияние на активность роста бактерий штамма *R. erythropolis* B2 при t_1 20-23 °C, где значения ОП бактериальной суспензии равнялась 1 условной единицы (у.е.), что более чем в 5 раз превышает значения на контрольной среде, и оказывала нейтральное воздействие на рост микроорганизмов при t_1 30-33°C. Второй этап работы заключался в оценке влияния ГМФ-бульона вносимого в концентрациях (0, 0,1г/л, 1г/л и 10г/л). Нами было установлено, что ГМФ активизирует рост микроорганизмов, в связи с чем накопление биомассы клеток равно 1,1 г/л при концентрации ГМФ равной 1г/л, и при концентрации ГМФ 10 г/л концентрация микроорганизмов равна 2,4 г/л, в связи с этим ГМФ-бульон может быть использован как химическая добавка в среде роста. Так же нами рассматривалось влияние различных источников азота KNO_3 , NH_4HCO_3 , $((NH_2)_2CO)$ - мочевины. В ходе эксперимента нами было установлено, что мочевина оказывает положительное влияние на рост *R. erythropolis* B2 и может быть использована как источник азота. Значения ОП на среде с мочевиной были равны 1,5 у.е. и превышали показатели прироста биомассы для сред с KNO_3 и NH_4HCO_3 более чем в 1,5 раза.

Полученные данные позволяют нам в дальнейшем смоделировать и создать новые питательные среды, на которых будет более эффективно происходить процесс накопления биомассы.

ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ВНУТРИ- И ВНЕКЛЕТОЧНОГО РЕДОКС-СТАТУСА НА СПОСОБНОСТЬ К БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*

Лепехина Е.В., Смирнова Г.В., Музыка Н.Г., Октябрьский О.Н.

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

alenshick@mail.ru

В зависимости от условий среды микроорганизмы могут существовать в виде одиночных подвижных планктонных клеток или в форме биопленок. Выбор жизненной стратегии определяется суммой различных стимулов, которые воздействуют на множественные сигнальные пути, что приводит к перепрограммированию экспрессии многих генов. Находясь в составе биопленок, бактерии становятся значительно более устойчивыми к действию антибиотиков, дезинфектантов и всех видов стрессов, что вызывает медицинские и технические проблемы и стимулирует исследование факторов, регулирующих образование биопленок.

В данной работе исследовалось влияние на биопленкообразование (БПО) у *E. coli* соединений, изменяющих редокс-статус среды (кверцетин, танин и глутатион), и мутаций по основным компонентам цитоплазматических редокс-систем глутатиона (*gshA*, *gor*, *grxA*, *grxB*) и тиоредоксина (*trxA*, *trxB*). Было показано, что полифенолы кверцетин и танин, которые при аутоокислении в аэробных условиях продуцируют активные формы кислорода и активируют OxyR регулон, способствуют повышению интенсивности БПО, в то время как экзогенный глутатион ингибирует этот процесс. Мутанты по генам *gor*, *grxA*, *grxB*, *trxA*, *gshA* и *gortrxB* проявляли повышенную способность к формированию биопленок при температуре 37°C. Эти штаммы демонстрировали пониженную подвижность в полужидком агаре, высокий уровень дисульфидов в белках, повышенную экспрессию гена *katG* и активность каталазы HPI. Полученные данные свидетельствуют, что экспрессия OxyR-регулона и дисульфидный стресс у мутантов по тиоловым редокс-системам могут вносить вклад в стимуляцию БПО. Механизм

этой стимуляции может включать индукцию OxyR-контролируемой малой регуляторной РНК OxyS, которая снижает экспрессию генов *flhDC*, ингибируя продукцию флагелл и подвижность бактерий. Более того, Ag43, большой протеин наружной мембраны, необходимый для формирования биопленок, также регулируется OxyR.

При изменении температуры культивирования в диапазоне от 20°C до 46°C в штамме дикого типа наблюдали два максимума БПО при 24°C и 44°C. Большинство мутантов по тиоловым редокс-системам утрачивали эти максимумы; кривая зависимости удельного биопленкообразования от температуры для двойного мутанта *gshAtrxA* была полностью противоположна аналогичному графику для бактерий родительского штамма. Это свидетельствует о важной роли внутриклеточных редокс-систем в контроле биопленкообразования при разных температурах. Исследования поддержаны грантами программы МКБ и РФФИ № 13-04-00706, 13-04-96039, № 14-04-96031.

БИНАЗА А НЕ СНИЖАЕТ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МАКРОФАГОВ

**Макеева А.В.¹, Несмелов А.А.¹, Эктор Аленадро Кабрера Фуентес^{1,2},
Ильинская О.Н.¹**

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

²Гиссенский университет им. Юстуса Либиха, Германия

annam.ksu@gmail.com

Инфильтрация макрофагов в ткани является значимым событием в развитие множества типов опухолей. Активация макрофагов ведет к появлению популяций клеток с различными функциями, в том числе с противоопухолевыми. Цитотоксические рибонуклеазы, к которым относится биназа (РНКаза *Bacillus pumilus*), обладают весомым потенциалом для использования в качестве средств терапии злокачественных новообразований. Однако без анализа влияния препарата на клетки макрофагов его практическое использование затруднено. Целью нашего исследования явилась оценка влияния биназы на жизнеспособность макрофагов. Макрофаги RAW264.7 и предварительно дифференцированные с помощью форбол-12-миристат-13-ацетата макрофаги ТНР-1 культивировали в атмосфере с 5% CO₂ в среде RPMI-1640 и DMEM (Sigma, США), соответственно, с добавлением 100 ед/мл пенициллина/стрептомицина, 10% сыворотки для ТНР-1, 10% инактивированной сыворотки для RAW264.7. Внесение биназы в концентрации 10 мкг/мл осуществляли после формирования монослоя 60% конфлюэнтности. Клетки культивировали в присутствии фермента в течение 3, 6 и 18 часов. Жизнеспособность клеток в культурах оценивали в ХТТ-тесте (PromoKine, Германия), а также в тесте на выход внеклеточных лактадегидрогеназ (Roche, Германия). Жизнеспособности выражали в (%) по отношению к активности ферментов в культуральной жидкости и в клетках, выращенных в течение такого же времени без обработки. Поглощение измеряли при 490 нм с референтной длиной волны 630 нм на мультиплашечном ридере ELX-800 (США). В качестве позитивного контроля использовали вариант с добавлением 1 мкМ стауроспорина. За 100% цитотоксичности принят вариант, где выход лактадегидрогеназы из клеток индуцирован Тритоном Х-100. Установлено, что биназа не обладает цитотоксическим действием в отношении клеток макрофагов RAW264.7 и ТНР-1. Доля клеток нежизнеспособных клеток через 18 ч культивирования в присутствии биназы в концентрации 10 мкг/мл не превысила 16%, в то время как данный показатель в контрольном варианте со стауроспорином составил 96% для клеток RAW264.7 и 85% для клеток ТНР-1. Биназа не вызывала статистически достоверного повышения доли нежизнеспособных макрофагов после 3 и 6 часов культивирования. Вместе с тем, биназа не приводила к высвобождению из клеток лактадегидрогеназ. Полученные данные позволяют предположить, что отсутствие цитотоксического по отношению к макрофагам действия биназы не будет препятствовать их активации, индукции провоспалительного ответа и противоопухолевому действию.

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ В ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ И ИХ СПОСОБНОСТЬ К ТОКСИНООБРАЗОВАНИЮ

Малютина Л.И.¹, Москвина Н.В.¹, Четина О.А.²

¹ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, ²Научно-исследовательская лаборатория «Бактерицид», Пермь, Россия

MalytinaLiI@gmail.com

На сегодняшний день одной из актуальных проблем здравоохранения является изучение состава микобиоты жилых помещений, поскольку плесневые грибы могут быть причиной развития различных заболеваний человека. При активном росте и развитии плесневых грибов образуется большое количество спор, которые разносятся током воздуха и достигают легких человека. Впоследствии это может привести к различным патологическим состояниям. Развитию микроскопических грибов в помещениях способствует создание благоприятных для них условий.

Целью работы было изучение разнообразия микромицетов жилых помещений и их способности к токсинообразованию.

Объектом исследования явились плесневые грибы, выделенные из 5 квартир г. Перми (всего 27 помещений). Часть помещений имела видимые следы биоповреждений. Микромицеты из воздушной среды выделяли методом седиментации, из строительно-отделочного материала - методом разведений. Высевали грибы на питательную среду Чапека-Докса. Содержание афлатоксина В1 определяли методом ВЭЖХ в трехкратной повторности спустя 5 дней после посева грибов.

Микробиологический анализ воздушной среды показал высокую обсемененность микромицетами воздуха помещений с видимыми признаками биоповреждений, в среднем 1988,28 КОЕ/м³. В смежных помещениях без видимых признаков биоповреждений количество спор составило в среднем 296,91 КОЕ/м³. Методом регрессионного анализа была установлена достоверная зависимость количества спор микромицетов в воздухе от их содержания в строительно-отделочном материале с признаками биоповреждений

Ядро микобиоты жилых помещений формируют представители родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Sporotrichum*. В помещениях с видимыми признаками биоповреждений возрастает доля микромицетов родов *Penicillium*, *Trichoderma*, *Scopulariopsis*. Около трети обнаруженных видов микромицетов относят к условно патогенным, примерно 30% являются потенциальными аллергенами (данные с сайта allergen.org).

На способность к образованию афлатоксина В1 было изучено 19 видов грибов, выделенных из жилых помещений. Около 60% видов микромицетов способны к образованию афлатоксина В1. Максимальным накоплением отличились *Humicola spp.* и *Penicillium expansum*.

Таким образом, жилые помещения с видимыми признаками биоповреждений и повышенным содержанием грибных спор в воздухе могут повредить здоровью человека.

МЕХАНИЗМ СИНЕРГИДНОГО ИНГИБИТОРНОГО ЭФФЕКТА 4-ГЕКСИЛРЕЗОРЦИНА И АЗИТРОМИЦИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК

Мартьянов С.В., Журина М.В., Плакунов В.К.

ФГБУН Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва, Россия

aegopodium102011@gmail.com

Микробные биопленки – это пространственно и метаболически структурированные сообщества микроорганизмов, погруженные во внеклеточный полимерный матрикс, и расположенные на границе раздела фаз. Интерес к микробным биопленкам связан, в первую очередь, с повышенной устойчивостью микроорганизмов, входящих в их состав, к антимикробным агентам. Недавно обнаружено явление стимуляции образования биопленок у патогенных микроорганизмов в присутствии низких концентраций антибиотиков. Нами доказано наличие этого феномена и у сапротрофных бактерий, что свидетельствует о его общебиологическом характере. Одним из перспективных направлений борьбы с биопленками является сочетание антибиотика с другим фактором, ингибирующим рост биопленок (фаги,

ультразвук, аналоги молекул quorum sensing). В качестве дополнительного ингибирующего агента мы использовали 4-гексилрезорцин – представителя ауторегуляторных алкилоксибензолов (АОБ). Это вещество уже применяется как пищевая добавка, не токсично для человека, что важно в случае его использования в медицине. Сам по себе 4-гексилрезорцин обладает невысокой ингибиторной активностью в отношении микробных биопленок, но, как показано нами, обнаруживает синергидное действие при комбинировании его с антибиотиками, в частности, с азитромицином. И что самое главное, 4-гексилрезорцин полностью предотвращает стимулирующее действие низких концентраций антибиотика на формирование биопленок как у грамположительных (*Dietzia natronolimnaea*, *Kocuria rhizophila*, *Rhodococcus equi*), так и у грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas chlororaphis*, *Chromobacterium violaceum*). Результаты окрашивания биопленок специфичным для кислых полисахаридов красителем (1,9-диметилметиленовым синим) указывают на то, что ингибиторный эффект 4-гексилрезорцина обусловлен подавлением синтеза матричных полисахаридов. Таким образом, 4-гексилрезорцин в сочетании с азитромицином представляется перспективным соединением для борьбы с формированием микробных биопленок. Наши предварительные данные указывают на то, что механизм действия этого вещества может быть связан с функционированием регуляторной системы «quorum sensing».

Работа поддержана финансированием по гранту РФФИ 13-04-01145

ДЕЛЬТА-ЭНДОТОКСИНЫ КАК ФАКТОР АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Мартьянова Д.И., Каменек Л.К.

ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный университет, Ульяновск, Россия

myoctopus@rambler.ru

Бактерии вида *Xanthomonas campestris* вызывают сосудистый бактериоз. Применение дельта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis* – один из наиболее оправданных методов. На современном этапе биозащиты преобладает микробиологический метод. Он значительно проще и по получению биомассы инфекционного материала, и по способам применения, и по учету эффективности борьбы.

Целью исследования было установить чувствительность *X. campestris* к различным концентрациям дельта-эндотоксинов *B. thuringiensis*.

В работе применяли один из промышленных подвидов продуцента дельта-эндотоксинов *B. thuringiensis subsp. kurstaki* Z-52. Тест-объектами служили фитопатогенные бактерии вида *X. campestris*.

Количественную оценку антибиотической активности эндотоксина проводили методом диффузии в агар. Для этого диски диаметром 5 мм, смоченные раствором дельта-эндотоксина, раскладывали на газон культуры, засеянный на агаризованную среду. Возраст колонии три дня. Чашки аэробно инкубировали при 28°C в течение 24 часов, затем определяли диаметры зон ингибирования роста индикаторного штамма вокруг диска. Была оценена активность токсина 8 концентраций: 0,01, 0,03, 0,1, 0,2, 0,3, 0,75, 1,5, 3,00%. В каждом варианте оценивали пять чашек Петри. Повторность опыта 5-кратная.

Наименьшая используемая нами концентрация дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* равна 0,01%. Бактерии вида *X. campestris* оказались восприимчивы к данной концентрации. При всех повторностях опыта была отмечена положительная реакция на данную концентрацию. С повышением концентрации рабочего раствора дельта-эндотоксинов *B. thuringiensis* диаметр зон лизиса так же имел тенденцию к расширению. При концентрациях 0,1, 0,2, 0,3, 0,75% резких изменений не наблюдалось. Значительные изменения отмечены при концентрациях 1,5% и 3%. В итоге, разница в диаметре между наименьшей и наибольшей используемыми концентрациями составила 2,52 мм и оказалась статистически достоверной. После измерений, диски с дельта-эндотоксинами были удалены с поверхности «подавляемой» колонии *X. campestris*. Вторичный рост через сутки отсутствует.

В ходе исследований было установлено ингибирующее действие дельта-эндотоксинов *B. thuringiensis subsp. kurstaki* Z-52 на *X. campestris*. Все используемые в опыте концентрации дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* оказывают антибактериальное действие на *X. campestris*.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРАЙМЕРНЫХ СИСТЕМ, РАЗРАБОТАННЫХ НА УЧАСТОК 16S-23S ГЕНА ДНК, ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ФИТОПЛАЗМ

Матяшова Г.Н.^{1,2}, Мазурин Е.С.¹, Заец В.Г.², Камаев И.О.¹

¹ФГБУ Всероссийский центр карантина растений, Московская обл.;

²ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

galine1988@yandex.ru

Фитоплазмы (*Candidatus Phytoplasma*) – слабо изученные микроорганизмы – возбудители болезней многих культурных растений. Их идентификация осложнена тем, что они не растут на питательных средах, сезонно мигрируют в органах растений, в жизненном цикле имеют латентные периоды. По некоторым свойствам клетки фитоплазм сходны с клетками грамположительных бактерий. Для точного выявления и идентификации фитоплазм применяют молекулярно-генетические методы на основе участка 16S-23S генов рибосомальной ДНК.

В настоящей работе проводили сравнительный анализ праймерных систем fU5/rU3 (Lorenz, 1995), M23Sr/16r758f (Gibb, 1995) и P1ATT/P625r («Q-bank», 2012), разработанных на участок 16S-23S генов, для выявления и идентификации фитоплазм при помощи секвенирования. Исследовали растительный материал, собранный на территории Российской Федерации, Франции и Испании. Методом ПЦР и «nested»-ПЦР получали ампликоны, которые генетически анализировали путем секвенирования по Сэнгеру. Последовательности ДНК сравнивали с данными генетической базы NCBI.

Было установлено, что среди трех пар праймеров fU5/rU3 позволяет наиболее точно определить видовую принадлежность фитоплазм (высокие проценты покрытия и идентификации по NCBI), не давая при этом ложноположительных результатов. Пара праймеров M23Sr/16r758f дает возможность идентифицировать все целевые виды фитоплазм, но при ее исследовании были выявлены перекрестные реакции с грамположительными. При проведении ПЦР с праймерами P1ATT/P625r удалось получить результаты секвенирования в двух случаях из восьми.

С помощью данных пар праймеров были выявлены и идентифицированы следующие возбудители фитоплазмозов на растениях: винограда – *Ca. Ph. solani*, груши – *Ca. Ph. pyri*, (респ. Дагестан, Россия), малины - *Ca. Ph. rubi*, бодяка – *Ca. Ph. asteris*, одуванчика – *Ca. Ph. taraxacum*, кактуса – *Cactus «witches-broom» phytoplasma* (Московская обл., Россия); яблони - *Ca. Ph. mali* (Валенсия, Испания), винограда – *Ca. Ph. vitis* (Монпелье, Франция).

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ЭПИФИТНОЙ МИКРОБИОТЫ РАСТЕНИЙ *ARTEMISIA NITROSA* WEB. И *ARTEMISIA SAISOLOIDES* WILLD

Меликян А.А.

ФГАОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

melikyan.anushka@yandex.ru

Изучение взаимоотношений микроорганизмов с растениями представляет научный интерес как с практической, так и с теоретической точки зрения. Меловые горы на р. Дон – это территория произрастания эндемичных растений - кальцефитов, эпифитная микрофлора которых остается неизученной. Как известно, степные экосистемы характеризуются повышенной уязвимостью при минимальной антропогенной нагрузке, поэтому необходимо проводить анализ состава микрофлоры растений с точки зрения экологического мониторинга. В связи с этим, целью настоящей работы является изучение микрофлоры растений *Artemisia nitrosa* Web. и *Artemisia salsoloides* Willd, произрастающих на территории Волгоградской области.

В ходе работы установлен количественный состав эпифитных микроорганизмов (микромикетов, бактерий, усваивающих органический азот и использующих минеральные формы азота) филлосферы и ризосферы *Artemisia nitrosa* Web. *Artemisia salsoloides* Willd. Было отмечено, что ризосфера представлена в большем количестве бактериями, использующими минеральные формы азота, чем усваивающими органический азот. Численность микроорганизмов, усваивающих минеральный азот, указывает на интенсивность процессов

минерализации органического вещества и наличие минеральных форм азота. Следовательно, в почве более низкая интенсивность процессов гумификации. В филлосфере отмечено большее количество микроорганизмов, усваивающих органический азот. Эти микроорганизмы растут за счет нормальных выделений тканей растения.

Полученные данные могут применяться в мониторинге почвенных экосистем и для их комплексной биологической диагностики.

АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПОЛИМЕРНОГО СОЕДИНЕНИЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА

Миндибекова Д.Е.¹, Шуршалова Н.Ф.¹, Нечаева О.В.², Заярский Д.А.³

¹ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,

²ГБОУ ВПО Саратовский государственный медицинский университет им.

В.И. Разумовского, ³ФГБОУ ВПО Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А., Саратов, Россия

francissella@rambler.ru

Целью нашей работы явилось изучение антимикробной активности полимерного соединения – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, а также его активированной формы с раствором перекиси водорода, в отношении стандартных штаммов грамотрицательных условно-патогенных бактерий *Escherichia coli* 113-13 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Объектом исследования явился водорастворимый полимер полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода (ПААГ) с молекулярной массой 100-200 кДа IV класса токсичности. Для активации к раствору ПААГ добавляли различные концентрации раствора перекиси водорода из расчета 1:100.

В ходе проведенных исследований было установлено, что ПААГ проявил антимикробную активность в отношении исследованных грамотрицательных бактерий, однако в отношении *P. aeruginosa* все рабочие концентрации полимера характеризовались бактериостатическим характером действия, а в отношении *E.coli* показатели минимальной бактерицидной концентрации (МБК) были достаточно высокими. При активации ПААГ раствором перекиси водорода наблюдалось резкое увеличение активности полимерного соединения в отношении грамотрицательных бактерий независимо от концентрации H₂O₂. Низкая активность ПААГ в отношении грамотрицательных бактерий, вероятно, связана с особенностями строения их клеточной стенки, поскольку через пориновые каналы могут проникать только химические соединения с определенной структурой и молекулярной массой. Введенная в состав препарата перекись водорода играет роль катализатора, который приводит к разрыву связей в полимерной цепочке и активации гидрат-ионов йода, что способствует повышению антимикробной активности.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют рассматривать ПААГ, активированный раствором перекиси водорода, в качестве эффективного нетоксичного антимикробного средства широкого спектра действия для борьбы с возбудителями инфекционных заболеваний.

ОКСАЛАТОКСИДАЗЫ БАКТЕРИИ *BACILLUS SUBTILIS* 26Д КАК ФАКТОР БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ГРИБНЫХ ФИТОПАТОГЕНОВ

Нафикова А.Р., Ляпина А.Р.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

aigoul.nafikova@gmail.com

Известно, что щавелевая кислота является фактором патогенности ряда грибов, и от ее нейтрализации зависят процессы формирования устойчивости растений к инфицированию. Негативное действие щавелевой кислоты обусловлено, в том числе и тем, что данный метаболит грибных патогенов образует с ионами кальция нерастворимые соли, что может

отключать кальций зависимую сигнальную систему в растениях. Типичные оксалатоксидазы однодольных, катализирующие окисление оксалатов кислородом с образованием углекислого газа и пероксида водорода, относятся к группе растительных белков, связанных с патогенезом (PR-15 белки). В то же время, в литературе имеются сведения о ризобактериях, способных к деградации оксалатов, и обсуждается их роль в биологическом контроле фитопатогенов.

Целью работы было изучение оксалатоксидазной активности бактерии *Bacillus subtilis*, являющейся основой биопрепаратов для растениеводства. Объектом исследования стал штамм *B.subtilis* 26Д, выделенный из биофунгицидного препарата "Фитоспорин" (ООО НПФ "БашИнком"). Ранее нами было показано, что штамм *B.subtilis* 26Д обладает прямым антибиотическим действием по отношению к широкому спектру грибов (родов *Fusarium*, *Bipolaris*, *Septoria*, *Phytophthora*), патогенных для пшеницы и картофеля, и, кроме того, способен индуцировать системную устойчивость этих растений к патогенам.

Активность оксалатоксидазы, экскретируемую бактериями в культуральную жидкость, оценивали спектрофотометрическим микрометодом после их двухсуточного культивирования на жидкой питательной L-среде, не содержащей оксалатов. Обнаружено, что штамм *B.subtilis* 26Д способен разлагать щавелевую кислоту по оксалатоксидазному пути с образованием пероксида водорода, который детектировался в присутствии коммерческой пероксидазы хрена и хромогенного субстрата (*o*-)фенилендиамина.

Таким образом, продукция оксалатоксидаз штаммом *B.subtilis* 26Д и, следовательно, деградация щавелевой кислоты и оксалатов кальция, а также генерация активных форм кислорода, может являться фактором устойчивости сельскохозяйственных культур в сложной системе взаимоотношений "растение-биопрепарат-фитопатоген".

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ №14.604.21.0016 по приоритетному направлению "Науки о жизни" в рамках мероприятия 1.2 Программы (уникальный идентификатор (RFMEFI57614X0039)).

СПОСОБЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ МЕТАНОГЕНЕЗА ПРИ ИЗБЫТОЧНОМ НАКОПЛЕНИИ ЛЕТУЧИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В АНАЭРОБНОМ РЕАКТОРЕ

Никитина А.А., Литти Ю.В.

ФГБУН Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва, Россия

nikitina.anna.1989@mail.ru

Анаэробное сбраживание применяется для переработки различных органических отходов (осадки сточных вод, бытовые, сельскохозяйственные отходы и т.д.) по всему миру и позволяет получить биогаз и биоудобрения. Добавление пищевых отходов позволяет увеличить выход биогаза и снизить концентрации токсичных компонентов в сбраживаемой смеси, однако избыточное содержание легко разлагаемого органического вещества может стать причиной дестабилизации процесса сбраживания за счет избыточного образования и накопления летучих жирных кислот (ЛЖК), в первую очередь ацетата, пропионата и бутирата.

Стабилизировать процесс можно путем внесения активных консорциумов синтрофных бактерий и метаногенных архей, адаптированных к повышенной нагрузке по ЛЖК. Из сброженного осадка метантенка получены синтрофные консорциумы, адаптированные к высоким концентрациям смеси ацетата, пропионата и бутирата (до 14 г/л). Показано, что процесс разложения смесей ЛЖК проходил в две последовательные стадии: 1) разложение ацетата и бутирата, 2) разложение пропионата, начинавшееся после исчерпания ацетата и бутирата. Таким образом, разложение пропионата является стадией, лимитирующей общую скорость разложения ЛЖК. При увеличении концентраций бутирата лимитирующей становилась стадия разложения ацетата, для осуществления которой необходимо присутствие в сообществе плотной популяции ацетокластических метаногенов, устойчивых к высоким концентрациям ацетата, и обладающих высокими скоростями роста. Добавление накопительных культур гидрогенотрофных и ацетокластических метаногенов приводило к увеличению общей скорости метаногенеза. Повышение температуры инкубации до 55°C также способствовало возрастанию скорости разложения смесей ЛЖК за счет увеличения активности пропионат-разлагающих бактерий.

Другим способом восстановления работы «закисленных» биореакторов является применение высоких концентраций флокулянтов. Показано, что добавление катионного полиакриламидного флокулянта Праестол 650 в концентрации 40 мг/г органического вещества способствовало активации метаногенеза при ингибирующих концентрациях ЛЖК (выше 16 г/л) в сбраживаемой смеси. Активизация метаногенеза, вероятнее всего, объясняется концентрированием биомассы и формированием структурированного метаногенного сообщества во флокулах, где за счет тесного контакта достигается более эффективная работа ассоциаций синтрофных бактерий и метаногенных архей и облегчается межвидовой перенос водорода; а также образованием градиента концентраций метаболитов, способствующим поддержанию достаточно низких концентраций ЛЖК во внутренних слоях флокул.

ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ И ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ БАКТЕРИЙ РОДА *THIOFLEXOTHRIX* - *THIOFLEXOTHRIX PSEKUPSII* GEN. NOV., SP. NOV.

Орлова М.В., Синюгина Д.И., Лютова Л.В.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

maryorl@mail.ru

Thioflexothrix psekupsi – представитель нового рода нитчатых скользящих бесцветных серобактерий из семейства *Beggiatoaceae* (уровень сходства с ближайшим филогенетическим соседом 86%). Был выделен из серного мата сульфидного источника в городе Горячий Ключ Краснодарского края.

Thioflexothrix psekupsi не способен расти при высоких концентрациях кислорода и является микроаэрофилом. Для *Thioflexothrix psekupsi* показаны различные способы нейтрализации негативного действия АФК на клетку, среди которых различают ферментативные и неферментативные.

К ферментативным способам защиты относится синтез ферментов антиоксидантной защиты: цитохром-с₅₅₁ пероксидазы и супероксиддисмутазы (СОД). Результаты частичного геномного секвенса не выявили генов других антиоксидантных ферментов.

Неферментативный способ защиты – синтез полисахаридного чехла вокруг филаментов, который снижает скорость диффузии кислорода в клетки. Анализ частичного геномного секвенса показал, что экзополисахариды у *Thioflexothrix* представлены галактаном, который прикрепляется к пептидогликану при помощи дисахаридного связующего звена (α -L-рамнозил-(1→3)- α -D-N-ацетилглюкозоамил-1-фосфат).

Мы культивировали *Thioflexothrix* при разных концентрациях кислорода в газовой фазе (от 0,35 до 1,5%). Было показано, что при повышении концентрации кислорода возрастает концентрация полисахаридов и активность цитохром-с₅₅₁ пероксидазы и СОД, что подтверждает их участие в защите от оксидативного стресса.

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ХОЛОДНЫХ МЕТАНОВЫХ СИПОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Ошкин И.Ю.

ФГБУН Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва, Россия

ig.owkin@gmail.com

Множественные выходы газа на поверхность (метановые сипы) были обнаружены нами в долине реки Мухринская, Западная Сибирь. Эти источники CH_4 не попадают ни под одно из известных описаний. В отличие от микросипов они формируют видимые проявления, а потоки из них в большинстве своем не превышают $1.45 \text{ g CH}_4 \text{ h}^{-1}$, что значительно меньше потоков из макросипов. Метановые сипы, исследованные в данной работе, характеризуются биогенным происхождением CH_4 (-71 %) и около-нейтральными величинами pH воды. Однако ключевой их особенностью является круглогодично низкая температура (3.5-5°C). Общее число метанотрофных клеток, детектированных методом FISH, составило 20.5 % от общего числа микробных клеток, что объясняет высокие скорости окисления метана в таких холодных

условиях ($7,86 \text{ нмоль } \text{CH}_4 \text{ мл}^{-1} \text{ д}^{-1}$). Состав метанотрофного сообщества был определен методом пиросеквенирования генов *pmoA*, кодирующих β -субъединицу метанмонооксигеназы. Наиболее крупные группы последовательностей относились к I типу метанотрофов. Из образцов ила метановых сипов было выделено 3 изолята метанотрофов. Штамм SM7, представленный крупными, подвижными, непигментированными палочками, обнаруживал 98% сходства по гену 16S рРНК с *Methylobacter tundripaludum*. Штамм SB12 представлял собой неподвижные короткие изогнутые палочки или коккоиды и обнаруживал 99.4% сходства по гену 16S рРНК с клонированной последовательностью V110 и была идентична таковой у *Methylocystis rosea*. Клетки изолята SB1, имеющие морфологию крупных кокков, обнаруживали 96% сходства по гену 16s рРНК с *Methylovulum miyakonense* и 90% сходства по гену *pmoA*, что позволяет выделить его в новый вид в пределах рода *Methylovulum*. Сравнение скоростей роста изолятов SM7 и SB12 при трех различных температурах инкубации (4, 10 и 20°C) показало, что штамм SM7 имел наиболее активный рост при 4 и 10°C, в то время как штамм SB12 отдавал предпочтение росту при 20°C, что хорошо согласуется с данными по FISH и пиросеквенированию, согласно которым метанотрофы I типа доминировали в образцах из метановых сипов. Изучение свойств изолята SB1 показало, что он способен к росту в интервале рН 5.2-8.0 и в интервале температур от 2 до 30°C, причем наиболее активный рост наблюдается в диапазоне от 15 до 23°C.

Метанотрофное сообщество метановых сипов Западной Сибири представлено в большинстве своем метанотрофами I типа, способными активно расти при низких температурах, что встречается достаточно редко, поэтому выделение микробных изолятов и изучение их свойств является приоритетным направлением в исследовании этих объектов.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ: ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

Ошуркова В.И., Лауринвичюс К.С., Щербакова В.А.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

Vicyle4ka@gmail.com

Актуальной проблемой современной микробиологии является поиск новых, более быстрых методов идентификации микроорганизмов, так как большинство используемых методов отличает большая продолжительность или невысокая точность.

В последние годы MALDI-TOF масс-спектрометрия зарекомендовала себя как простой и надежный метод идентификации микроорганизмов, в основе которого лежит получение масс-спектра высоко консервативных и видоспецифичных рибосомальных белков исследуемой культуры и сравнение его с масс-спектрами, содержащимися в базе данных. Выраженная в относительных единицах степень сходства позволяет сделать вывод о принадлежности микроорганизма к тому или иному виду. Однако важно отметить, что возможное ограничение предложенного метода связано с высоким сходством белкового профиля внутри некоторых групп микроорганизмов. Другим ограничением применения данного метода идентификации является отсутствие в коммерческих базах данных белковых профилей многих представителей эукариот и архей и, в частности, полностью отсутствуют данные о метаногенах.

Целью настоящей работы была оценка возможности применения MALDI-TOF масс-спектрометрии для ускоренной идентификации метанобразующих архей, выделенных из различных природных и техногенных экосистем.

В результате проведенного исследования впервые получены белковые профили более 40 штаммов метаногенов, относящихся к 24 видам родов *Methanobacterium*, *Methanotermobacter*, *Methanosarcina*, *Methanospirillum*, *Methanocalculus* и *Methanosaeta*, выращенных в жидких питательных средах. Сравнение полученных данных с данными филогенетического анализа исследованных штаммов показало принципиальную возможность экспресс-определения новых представителей метанобразующих архей методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с точностью до вида. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-04-08612

ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ У ЩУК (*ESOX LUCIUS*) В ОЗЕРЕ КАМЕННОЕ (БАССЕЙН БЕЛОГО МОРЯ)

Паршуков А.Н.¹, Иешко Е.П.¹, Юхименко Л.Н.²

¹ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск,

²ФГБНУ ВНИИ пресноводного рыбного хозяйства, Московская обл., Россия

ecologya84@gmail.com

Данные о заболевании «чума щук» регистрируются, начиная с двадцатых годов XX столетия, однако возбудитель до сих пор окончательно не установлен. В литературе подробно описана щучья чума с историческими сведениями, общей картиной заболевания, специфическими признаками и предполагаемыми возбудителями, но в последующих трудах «чума щук» по-прежнему определяется, как болезнь, с недостаточно изученной этиологией. Согласно современным представлениям Головина и др. (2007), считается, что в солоноватых водах чуме щук соответствует болезнь под названием вибриоз, тогда как в пресных водах встречается заболевание со схожими признаками, за которым сохранилось название «чума щук». В большинстве случаев эпизоотия приурочена к весеннему периоду, совпадающему с нерестом щуки, а само заболевание может стать причиной скоротечной высокой смертности рыб. В июне 2012 года в озере Каменное (бассейн Белого моря) зафиксирован случай массовой гибели щуки. В работе представлены результаты изучения состава микрофлоры внутренних органов щуки и определения первичного возбудителя инфекции. В ходе анализа бактериологических данных, полученных за 2013 и 2014 гг., установлено, что микробиоценоз паренхиматозных органов щуки представлен разнообразной микрофлорой, которую можно разделить на 4 группы бактерий: Группа 4. Грамотрицательные, аэробные/микроаэрофильные палочки и кокки; Группа 5. Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки; Группа 15. Нефотосинтезирующие, не образующие плодовых тел скользящие бактерии; Группа 18. Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры. Эпизоотическая ситуация на озере Каменное имеет общую положительную тенденцию в снижении уровня напряженности по бактериальному заболеванию чумой щук. Описанный в литературе возбудитель инфекции *Aeromonas punctata* forma *pellis* не найден, но по нашим данным возможным этиологическим агентом могут выступать *Aeromonas*, *Moraxella* sp. и *Hafnia alvei*. Моракселлы относятся к условно-патогенной микрофлоре и существенного вреда рыбе не приносят, но заселение ими внутренних органов может ухудшать общее состояние организма и приводить к снижению темпов роста, стрессоустойчивости и иммунных реакций. Помимо моракселл, наибольший интерес представляют ацинетобактерии и аэромонады, появление которых ассоциируется с развитием бактериальной геморрагической септицемии у рыб.

ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ШТАММОВ ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO* *CHOLERAЕ* БИОВАРА ЭЛЬ ТОР К ДЕЙСТВИЮ ОСМОТИЧЕСКОГО И ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССОВ

Плеханов Н.А., Заднова С.П., Крепостнова И.М., Ерохин П.С., Смирнова Н.И.

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,
Саратов, Россия

muscari.sp@yandex.ru

В настоящее время причиной холеры – особо опасной инфекционной болезни, способной к эпидемическому распространению, являются токсигенные штаммы геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор с повышенной вирулентностью. Показано, что одна из причин их высокой вирулентности связана с изменением структуры профага вирулентности СТХф, содержащего гены холерного токсина. Однако вопросы экологии недавно появившихся штаммов геновариантов практически не изучены. В то же время, исследование процессов выживаемости данных штаммов после действия различных неблагоприятных факторов внешней среды позволит выявить причины их селективного преимущества в современный период.

В работе были использованы штаммы геновариантов, явившиеся причиной вспышек холеры в Татарстане (1993, 2001), Краснодаре (1993), Дагестане (1994) и Перми (1994). Для сравнения были взяты типичные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор, вызвавшие начало

текущей, 7-ой, пандемии. Все исследованные штаммы были подвергнуты действию осмотического (3 М NaCl) и оксидативного (20 mM H₂O₂) стрессов. В результате установлено, что геноварианты, в отличие от типичных штаммов, более устойчивы к действию данных стрессовых факторов, что выражается в сохранении значительно большего количества жизнеспособных клеток. Выявлено, что один из механизмов их повышенной устойчивости к осмотическому стрессу связан с продукцией на поверхности клеток дополнительного экзополисахаридного слоя (ЭПС) сразу после начала действия стрессового фактора. Возможно, именно способность геновариантов быстро перестроить метаболизм клетки и начать биосинтез ЭПС в ранние сроки спасает популяцию от гибели. Механизм устойчивости геновариантов к перекиси водорода пока не выявлен; можно предположить повышенный уровень продукции каталазы данными штаммами.

Далее при ПЦР-тестировании штаммов геновариантов, подвергшихся действию стрессовых факторов, у одного из штаммов выявлены клоны, утратившие ряд мобильных генетических элементов (МГЭ). Полученные изогенные клоны могут быть использованы в модельных экспериментах по исследованию влияния делетированных МГЭ на биологические свойства штаммов геновариантов.

Таким образом, установлено, что изменение структуры профага вирулентности СТХφ привело не только к усилению вирулентности штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор, но и обеспечило им большую устойчивость к стрессовым факторам, что, возможно, способствует повышенной выживаемости данных штаммов как в макроорганизме, так и во внешней среде.

АЭРОБНЫЕ МЕТИЛОБАКТЕРИИ: НОВЫЕ ТАКСОНЫ И ИХ ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Порошина М.Н.^{1,2}, Мустахимов И.И.²

¹ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт,

²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

poroshinam@rambler.ru

Аэробные метиловобактерии используют различные C₁-соединения (но не метан) в качестве источников углерода и энергии. Для расширения биоразнообразия и понимания экологической роли этих бактерий, а также в связи с перспективами реализации их биотехнологического потенциала, актуален поиск и изучение метиловобактерий, адаптированных к условиям экстремальных биотопов.

Цель работы – физиолого-биохимическая и таксономическая характеристика двух новых изолятов аэробных метиловобактерий: штамма РК2 - из образца соленой воды (3 % NaCl) и штамма РК1 - из ризосферы осоки (Памуккале, Турция).

Методами полифазной таксономии, включая электронную микроскопию, энзимологический анализ, хемотаксономические исследования, секвенирование генов 16S рРНК, изолят РК2^T отнесен к новому роду и виду галотолерантных метилотрофных бактерий - *Methylobrevia pamukkalensis* gen. nov. sp. nov. (РК2^T=VKM В-2849^T); а штамм РК1 отнесен к новому подвиду *Advenella kashmirensis* subsp. *methylica* РК1 (VKM-В 2850) и является первым метилотрофным представителем рода *Advenella*.

Штамм РК2 является ограниченно-факультативным, а штамм РК1- факультативным метилотрофом. Энзимологический анализ показал, что штамм РК2 реализует ищл-положительный вариант серинового пути C₁-метаболизма, а штамм РК1-рибулозобисфосфатный путь.

Изолят РК1 негалотолерантен, является фитосимбионтом, т.к. синтезирует производные индола (фитогормоны ауксины).

Галотолерантный штамм РК2 растет при 0-6 % NaCl и в ответ на повышение солености среды в качестве основного осмопротектора накапливает эктоин (80 мкг/мг сухого веса клеток).

Кроме того, в условиях лимита по азоту *M. pamukkalensis* РК2^T синтезирует полигидроксипутират с молекулярной массой до 900 кДа, и является потенциальным

продуцентом этого биосовместимого и биodeградебельного пластика при выращивании на дешевом непищевом сырье-метаноле.

Работа поддержана Госзаданием Минобр. науки РФ № 6.749.2014/к.

РАЗВИТИЕ СИСТЕМЫ КЛАССИФИКАЦИИ И МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ НА УРОВНЕ ВИДА (НА ПРИМЕРЕ РОДА *RATHAYIBACTER*)

**Присяжная Н.В.¹, Стародумова И.П.^{1,2}, Тарлачков С.В.^{1,3}, Автух А.Н.¹,
Дорофеева Л.В.¹, Евтушенко Л.И.¹**

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Всероссийская коллекция микроорганизмов, ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, ³Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

tennoko@rambler.ru

Темпы изучения микробного разнообразия и обнаружение массивов новых видов определяют актуальность развития системы классификации и эффективных методов идентификации микроорганизмов, особенно, на уровне близких видов.

Род *Rathayibacter* (сем. *Microbacteriaceae*) включает 6 видов (сходство генов 16S рРНК до 99.5%). Виды рода (*rathayi*, *iranicus*, *tritici*, *toxicus*) известны как фитопатогены злаковых растений. Представители *Rathayibacter* обнаружены в микробиомах здоровых растений, животных и человека, а также в почве и других природных местообитаниях.

Результаты сравнительного изучения 26 штаммов *Rathayibacter* из фонда ВКМ с применением МАЛДИ масс-спектрометрии показали, что большинство культур образуют общие группы с типовыми штаммами известных видов. Ряд штаммов занимают несколько обособленное положение. Результаты в целом согласуются с данными анализа генов 16S рРНК.

Для уточнения видовой принадлежности штаммов и порогового значения уровня сходства МАЛДИ-спектров для видов *Rathayibacter*, были проанализированы «housekeeping» гены (*gyrB*, *recA*, *rpoB*, *ppk*) и проведена ДНК-ДНК гибридизация. Установлено, что два штамма, обособляющиеся по МАЛДИ-спектрам – ВКМ Ас-2121 и ВКМ Ас-2596 [ассоцианты атипичных для *Rathayibacter* растений – *Androsace* sp. (проломник) и *Tanacetum* sp. (пижма)], являются представителями двух новых видов. Два других [ВКМ Ас-2597 и ВКМ Ас-2630 из *Acroptilon repens* (горчак)] относятся к *R. caricis* (высокое сходство «housekeeping» генов; уровень ДНК-ДНК гибридизации >70%). С учетом отличий ассоциантов *A. repens* от типового штамма *R. caricis* по МАЛДИ спектрам и другим таксономическим признакам, эти штаммы отнесены к новому подвиду *R. caricis*.

В числе важных результатов работы – создание инструментария для экспресс-идентификации штаммов рода *Rathayibacter* и выявления представителей новых видов и подвидов – что актуально как для фундаментальных исследований (эволюция, экология, биогеография), так и практических задач (фитосанитарный контроль, экибиотехнология, защита интеллектуальной собственности). Создана референтная база данных МАЛДИ масс-спектров штаммов *Rathayibacter*, слабо представленных в коммерческой базе данных Bruker Daltonics. Обнаружены новые хемотаксономические маркеры рода (компоненты МАЛДИ масс-спектров 3954, 4428 и 6458 *m/z*). Сконструированы праймеры для амплификации «housekeeping» генов представителей рода, позволяющие уточнить таксономический статус штаммов, для которых МАЛДИ масс-спектрометрия дает неоднозначные результаты.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-31825.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. VICIAE К ТОКСИЧНЫМ МЕТАЛЛАМ

**Пухальский Я.В.¹, Белимов А.А.¹, Азарова Т.С.¹, Макарова Н.М.¹,
Сафронова В.И.¹, Шапошников А.И.¹, Тихонович И.А.¹, Носиков В.В.²,
Литвинский В.А.², Завалин А.А.²**

¹ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Ленинградская обл.;

²ФГБНУ ВНИИ агрохимии им. Д.Н. Прянишникова, Москва, Россия

jankiss88@gmail.com

В настоящий момент экспериментальные данные о роли клубеньковых бактерий в мобилизации тяжелых металлов (ТМ) и эффективности процесса фитоэкстракции металлофитами, аккумуляторами и гипераккумуляторами весьма фрагментарны, несмотря на признание перспективности исследований в данном направлении.

Нами была поставлена цель отобрать из 60 коллекционных штаммов клубеньковых бактерий гороха посевного (*Pisum sativum* L.) штаммы с повышенной устойчивостью к различным ТМ (Al, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, La, Hg, Pb). Бактерии выращивали на модифицированной маннитно-дрожжевой питательной среде, обогащенной солями ТМ.

В результате были найдены минимальные ингибирующие рост и летальные концентрации металлов для каждого штамма. Наибольшая варибельность по устойчивости выявлена для Cd (13 раз), Hg (14 раз), Zn (12 раз) и Ni (5 раз), а наименьшая варибельность выявлена для Co (2,1 раза) и Fe (2,2 раза). Распределения штаммов по устойчивости к ТМ отличались от нормального распределения и носили дискретный характер, что выражалось в образовании отдельных групп штаммов с пониженной, средней и высокой устойчивостью. Положительной корреляции между устойчивостью штаммов к различным металлам не обнаружено, за исключением Cd/Zn и Cu/Fe. Результаты кластерного анализа показали, что штаммы бактерий могут быть сгруппированы в 3 группы: (I) штаммы с повышенной устойчивостью к Fe и низкой устойчивостью к Cd и Zn; (II) штаммы с повышенной устойчивостью к Ni и Hg и низкой устойчивостью к Fe и Mn; (III) штаммы с повышенной устойчивостью к Cd, Cu и Mn. В тоже время данные группы не дифференцировались по устойчивости штаммов к Co и Pb, а группы I и II не различались по устойчивости к Ni. Выявлены особенности полиморфизма, дающие возможность отбора штаммов с повышенной устойчивостью к определенным металлам, но затрудняющие отбор штаммов с максимальной устойчивостью одновременно ко многим металлам. Наиболее быстрый и активный рост в присутствии токсичных концентраций металлов наблюдался у штаммов: CIAM1066, CIAM1037, CIAM1045, CIAM1062 и CIAM1079. Среди устойчивых к металлам штаммов выявлены высокоэффективные в симбиозе с викой и горохом, а также обладающие АЦК-дезаминазной активностью. Эти штаммы являются перспективными объектами для дальнейшего изучения механизмов взаимодействия клубеньковых бактерий с растениями на загрязненных и кислых почвах.

Работа поддержана грантом РФФИ (12-04-01501-а). Устойчивость бактерий к алюминию изучена при поддержке РФФ (14-16-00137).

ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ МАРИ КРАСНОЙ (*CHENOPodium RUBRUM* L.), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ СОЛЕРАЗРАБОТОК (Г. СОЛИКАМСК, ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Пьянкова А.А., Назаров А.В.

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

annpjankva@mail.ru

Было исследовано бактериальное сообщество ризосферы растений вида марь красная (*Chenopodium rubrum* L.), произрастающих вблизи солеотвала соледобывающего предприятия (г. Соликамск, Пермский край). Данный вид растения является обычным для наиболее засоленных участков района промышленных разработок Верхнекамского месторождения

солей. Пробы ризосферной почвы отбирали во время вегетации растений – в середине июня и в период цветения – в середине июля.

Отмечено увеличение засоленности почвы исследованного участка (в период с июня по июль), связанное со снижением вымывания солей и их накоплением в почве в летний период. Так, содержание ионов натрия в почве возрастает в 4,2 раза с 119 мг/100 г в июне до 496 мг/100 г в июле. Указанные особенности техногенного засоления почвы изученного участка определяют специфичность ризосферного бактериального сообщества растений.

Обычно, на стадии цветения растений общая численность культивируемых ризосферных микроорганизмов и их разнообразие достигает максимального значения. В нашем исследовании не выявлено значительного повышения численности выделенных бактерий во время цветения растений. В июне, во время вегетации растений, общая численность бактерий в ризосфере составляла $1,6 \times 10^7$ кл/г, в июле в период цветения – $2,0 \times 10^7$ кл/г.

Известно, что типичными ризосферными бактериями являются представители рода *Pseudomonas*. Из ризосферы растений мари красной в июне выделены бактерии, принадлежащие родам: *Halomonas*, *Marinobacter*, *Microbacterium*, *Bacillus*, *Planomicrobium*, *Salegentibacter*. В ризосфере растений в июльский период происходит снижение таксономического разнообразия бактерий, выявлены бактерии, относящиеся к родам: *Halomonas*, *Photobacterium*, *Bacillus*. Наибольшую численность в обоих случаях имели представители рода *Halomonas*, их доля в ризосфере в июне составляла 35%, в июле – 45%. При этом индекс Шеннона для бактериальных сообществ ризосферы растений мари красной в июне и июле составлял 2,684 и 2,366, соответственно.

Таким образом, установлено, что техногенное засоление почвы в окрестностях г. Соликамска оказывает существенное влияние на бактериальное сообщество ризосферы растений вида марь красная (*Chenopodium rubrum* L.). Обнаружено преобладание в ризосферном сообществе бактерий рода *Halomonas*. Полученные данные позволяют предположить наличие тесных симбиотических связей между видами рода *Halomonas* и растениями в условиях засоления.

Работа поддержана грантом РФФИ-Урал №13-04-96048 р_урал_a и грантом CRDF Global – УрО РАН (Грант. согл. № RUB2-7100-PE-13).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ ДИОКСИГЕНАЗ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ ХЛОРФЕНОКСИУКСУСНЫХ КИСЛОТ

**Сагитова А.И.¹, Стариков С.Н.¹, Гафаров Р.Ф.¹, Гаврильченко А.Г.²,
Егозарьян Н.С.², Стамбулиди А.А.², Гимранов Э.Р.², Камалов А.М.²**

¹ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН, ²ФГБОУ ВПО Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия

a_sagitova@mail.ru

В настоящее время все большее внимание привлекает изучение микроорганизмов, способных утилизировать синтетические загрязнители ароматического ряда, постоянно поступающие в окружающую среду со стоками и отходами производства пестицидов, лекарств, лаков и красителей.

Существенную роль в контроле над процессами деградации молекул ксенобиотиков играют, так называемые, гены первичной атаки, детерминирующие преобразование чужеродных соединений в формы, доступные для воздействия периферических ферментов. В частности, *tfdA*-гены, кодирующие α -кето-глутарат-зависимую 2,4-Д-диоксигеназу, детерминирующую преобразование хлорфеноксиуксусной кислоты в 2,4-дихлорфенол и сукцинат.

Цель настоящей работы – провести сравнительный ПЦР-анализ *tfdA*-генов природных бактерий-деструкторов хлорфеноксиуксусных кислот.

В качестве объектов исследования использовались изоляты природных бактерий, выделенные из образцов почв и грунтов Уфимского промузла РБ. При получении препаратов бактериальной ДНК применяли методику, основанную на модифицированном методе щелочного выделения Бирнбойма-Доли и Wizard-технологии фирмы Promega. Амплификацию ДНК осуществляли в термоциклере Applied Biosystem Thermal Cycler. Секвенирование ПЦР-

фрагментов проводили с использованием набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit согласно рекомендациям фирмы изготовителя. Нуклеотидные последовательности сравнивали в формате программ BLAST и CLUSTALW с использованием ресурсов данных GenBank.

В ходе проведенных исследований был осуществлен скрининг и сравнительный анализ *tfdAa*-генов бактерий различных таксономических групп, а именно, родов *Bacillus*, *Gordonia*, *Pseudomonas*, *Raoultella*, *Rhodococcus* и *Serratia*.

ПЦР-продукты *tfdAa*-генов были обнаружены у представителей родов *Pseudomonas* и *Raoultella*, в то время как у других они отсутствовали. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что исследованные природные штаммы родов *Pseudomonas* и *Raoultella* обладают α -кето-глутарат-зависимой 2,4-Д-диоксигеназой. При этом идентичность *tfdAa*-генов *R. planticola* и *R. ornithinolytica* В6 составляла 91%. Уровень гомологии *tfdAa*-генов штаммов *P. plecoglossicida* и *P. putida* ND6 составлял 99%.

Результаты работы могут быть применены в области ремедиации окружающей среды в техносфере.

Работа выполнена при содействии гранта Программы Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» на базе Учебно-научного центра БГУ им. М.Акумулы и УИБ РАН под руководством д.б.н., проф. Гобуновой В.Ю., д.б.н., проф. Маркушевой Т.В. и к.б.н. Жариковой Н.В.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЁНОК БАКТЕРИЯМИ *ESCHERICHIA COLI* В ПРИСУТСТВИЕ АНТИБИОТИКОВ

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

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

samzu@mail.ru

Целью работы явилось исследование влияния 18 экстрактов лекарственных растений, зеленого и черного чая на био пленкообразование (БПО) бактерий в присутствии антибиотиков ципрофлоксацина, стрептомицина и цефотаксима.

В работе были использованы сублетальные концентрации антибиотиков: 3 мкг/мл ципрофлоксацина, 10 мкг/мл цефотаксима или 30 мкг/мл стрептомицина. В наших условиях эти дозы снижали БПО культур *Escherichia coli* в 5-7 раз. Чтобы изучить влияние экстрактов на БПО в присутствии антибиотиков бактериальные культуры обрабатывали экстрактами в течение 20 мин, затем добавляли антибиотик и через 22 ч оценивали БПО.

В присутствии ципрофлоксацина обнаружено повышение БПО в 1,6 раза в присутствии *I. obliquus*, в 1,7 раза в присутствии *B. pendula*, в 2,9 раза в присутствии зеленого чая, в 6,7 раза в присутствии *V. vitis-idaea* and в 8,5 раза в присутствии чёрного чая по сравнению с культурами, обработанными только антибиотиком.

Показано, что обработка культур стрептомицином и экстрактами зелёного и чёрного чая, *A. uva-ursi*, *V. vitis-idaea*, *T. cordata* и *I. obliquus* повышала БПО в 2 и более раза по сравнению с культурами, обработанными только антибиотиком. Наибольший стимулирующий эффект был отмечен у экстрактов *A. uva-ursi* и *V. vitis-idaea*, которые повышали БПО в 22 и 23 раза, соответственно. В тех же условиях, экстракты *A. millefolium*, *B. tripartite*, *U. dioica*, *C. officinalis* и *L. japonica* подавляли БПО в 2 и более раза по сравнению с культурами, обработанными только антибиотиком.

Выявлено достоверное повышение БПО при действии цефотаксима и экстрактов зелёного и чёрного чая, *A. uva-ursi*, *V. vitis-idaea*, *T. cordata*, *B. pendula* и *I. obliquus*. В тех же условиях экстракты *A. millefolium*, *U. dioica*, *E. arvense* и *L. japonica* оказывали достоверный ингибирующий эффект на БПО при действии цефотаксима.

Выявленная способность экстрактов модулировать БПО в присутствии антибиотиков была связана с содержанием полифенолов и прооксидантными свойствами.

Среди изученных экстрактов наиболее мощными стимуляторами БПО в присутствии трех антибиотиков явились зелёный и чёрный чай, а также экстракты лекарственных растений *A. uva-ursi* (толокнянка) и *V. vitis-idaea* (брусника).

Исследование выполнено при поддержке грантом РФФИ-Урал № 14-04-96031.

ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ УКРОПА И ПЕТРУШКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

Сарварова Е.Р., Благова Д.К., Хайруллин Р.М.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

sarvarova_lena@mail.ru

Растущий интерес к эндофитным бактериям связан с возможностью их последующего использования в растениеводстве. На наш взгляд, наибольший интерес представляют эндофиты, заселяющие ткани зеленных культур, употребляемых в свежем виде. В связи с этим целью работы являлось выделение бактериальных эндофитов из тканей укропа и петрушки, изучение их разнообразия, а также выявление хозяйственно-полезных признаков.

Органы растений предварительно поверхностно стерилизовали, затем из внутренних тканей выделяли эндофиты. После оценки разнообразия штаммов методом RAPD-ПЦР, каждая группа колоний анализировалась на наличие фунгистатической активности к фитопатогенным грибам, способность растворять фосфаты, продуцировать сидерофоры и проявлять иную активность. Наиболее активные штаммы были идентифицированы с помощью секвенирования 16s рРНК с использованием ресурсов ЦКП «Биотехнология» (г. Москва).

Установлено, что из растений укропа чаще всего эндофиты выделяются из корней (58%). Из стеблей таких бактерий было выделено 32%, из листьев – 10%. Идентификация изолятов выявила, что 71,7% из них принадлежали к семейству *Enterobacteriaceae*, 1,6% – к роду *Pseudomonas* и 6,7% – к роду *Bacillus*, 20,0% не были идентифицированы. 17% исследованных нами изолятов обладали антагонистической активностью к фитопатогенным грибам, а 77% были способны растворять фосфаты. Один изолят, идентифицированный как *Bacillus amyloliquefaciens*, синтезировал сидерофоры и обладал высокой антагонистической активностью к фитопатогенным грибам.

Полученные нами данные свидетельствуют о возможности использования зеленных культур для последующего выделения из них эндофитных бактерий, которые могут быть использованы в качестве эффективных компонентов биопрепаратов для защиты растений от стресса биотической и абиотической природы.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 14.604.21.0016 по приоритетному направлению "Науки о жизни" в рамках мероприятия 1.2 Программы (уникальный идентификатор (RFMEFI57614X0039)).

ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ПОИСКА ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ АНТИБИОТИКИ С РАЗЛИЧНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ

Сацункевич Н.Е., Титок М.А.

Институт микробиологии НАНБ, Минск, Беларусь

nesatsunkevich@gmail.com

Изучение природных бактерий, продуцирующих антимикробные соединения, является актуальной задачей и имеет научное и прикладное значение. Целью работы являлось создание тест-системы для поиска природных бактерий, продуцирующих антибиотики с различным механизмом действия. В работе использовались микробиологические и молекулярно-генетические методы (ПЦР, рестрикция, лигирование, секвенирование, трансформация). Создано четыре вектора с регуляторными последовательностями, обеспечивающими экспрессию репортерного гена *lacZ* в присутствии антибиотиков. На диагностической среде бактерии *B. subtilis*, содержащие векторные молекулы, окрашивались в синий цвет в присутствии антибиотиков, нарушающих синтез клеточной стенки, ДНК, РНК и белков, соответственно.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM* SCRI1043 НА ГОЛОДАНИЕ

**Сергеева Ю.П.¹, Горшков В.Ю.², Даминова А.Г.², Гоголев Ю.В.²,
Петрова О.Е.²**

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

juliasergeeva_94@mail.ru

Микроорганизмы в природных условиях подвергаются различным стрессовым воздействиям. Малые размеры и индивидуальный образ жизни ограничивают способность микроорганизмов контролировать и кондиционировать среду обитания. Однако, бактерии способны быстро распознавать изменения внешней среды и адекватно реагировать на них. Учитывая разнообразие стрессовых факторов, и неодинаковое физиологическое состояние микроорганизмов в момент стрессового воздействия логично предположить существование множества адаптивных программ в популяции бактерий.

Целью данной работы является характеристика морфогенетических характеристик бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 (*Pba*), подвергаемых стрессу голодания при различном исходном физиологическом состоянии (клетки логарифмической (ЛФ) и стационарной (СФ) фаз роста).

В качестве модельных систем в работе использовались культуры, голодающие на минимальной среде АВ, не содержащей углерод и фосфор. Характеристику особенностей адаптивного ответа у бактерий проводили с помощью анализа экспрессии генов, продукты которых участвуют в образовании устойчивых и/или покоящихся клеточных фенотипов, в том числе кодирующих белки, обеспечивающие конденсацию нуклеоида и участвующие в метаболизме клеточной стенки. Также, выявили особенности ультраструктуры голодающих клеток с помощью электронной микроскопии.

В культурах *Pectobacterium*, инокулированных клетками СФ, происходило динамичное образование покоящихся клеток, не выявляемых при помощи высевов колониеобразующих единиц, но выявляемых при помощи ПЦР. При этом на микрографиях голодающей культуры было выявлено значительное количество клеток округлой формы с разной степенью целостности клеточной стенки (СWD-клетки). В случае клеток ЛФ, в качестве адаптивной стратегии использовалась модификация генетического аппарата клетки, которая выражалась в сложности детектирования целевой ДНК при помощи ПЦР-РВ. Очистка ДНК методом фенол-хлороформной экстракции (удаление ДНК-связывающих белков) приводила к восстановлению ПЦР-сигнала. На микрографиях обнаруживались клетки с электронно-плотным конденсированным нуклеоидом. Было установлено, что в условиях голодания экспрессия генов, продукты которых участвуют в конденсации нуклеоида, а также в синтезе/гидролизе клеточной стенки, в СФ культуре была снижена по сравнению с ЛФ культурой. Таким образом, в зависимости от своего физиологического состояния бактерии способны реализовать разные стратегии адаптации к голоду с образованием разнородных клеточных морфотипов.

ПЛАЗМИДЫ ГРУППЫ INCР-9 КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВЕКТОРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КЛОНИРОВАНИЯ

Сечеников А.А., Титок М.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

sechenikov.artiom@gmail.com

Бактерии рода *Pseudomonas* широко используются в биотехнологии как стимуляторы роста растений, продуценты биологически активных соединений, деструкторы опасных ксенобиотиков. Для анализа отдельных генетических детерминант, а также создания штаммов с улучшенными свойствами, необходимы векторные системы. В этом плане определенный интерес представляют плазмиды широкого круга хозяев группы IncP-9.

Целью настоящей работы являлось использование генетически модифицированных вариантов мини-репликона плазмиды группы IncP-9 для создания векторов для клонирования

чужеродных молекул ДНК, анализа промоторных участков, а также обнаружения в окружающей среде ПАУ (нафталина) и продуктов его биodeградации (салицилата).

В результате мутагенеза *in vitro*, сиквен-анализа, а также техники перекрывающейся полимеразной цепной реакции были отобраны варианты мини-репликона плазмиды группы IncP-9 (не содержали *par*-локуса), совмещающие в пределах нуклеотидной последовательности *rep*-гена и *oriV*-сайта, отдельные мутационные изменения. Полученные репликоны характеризовались увеличением копийности (максимальное число копий увеличилось более чем в 20 раз) и стабильности наследования в широком круге бактерий рода *Pseudomonas* (изучено наследование в клетках 10 видов псевдомонад). Отобранные плазмиды использовали как основу для создания векторных молекул. В частности, встраивание измененных *rep*-областей в незначимую область плазмиды pK18mob позволило отобрать вектора, пригодные для экспрессии чужеродного генетического материала. Стандартные генно-инженерные манипуляции (полимеразная цепная реакция, рестрикция и клонирование) позволили на основе вектора pK18mob, содержащего мутантную *rep*-область плазмиды IncP-9, создать конструкцию, не содержащую регуляторных последовательностей (промоторных участков) со встроенным репортерным геном *gfp*. Полученная векторная молекула может использоваться для анализа промоторов и изучения регуляции транскрипции отдельных генетических детерминант. И, наконец, в одну из конструкций перед репортерным геном *gfp* был встроен регуляторный ген *nahR* с промоторным участком гена *nahG*. Внесение данного вектора в бактерии *P. putida*, утилизирующие нафталин (содержали Nah-плазмиду группы IncP-7), обеспечивало свечение клеток в присутствии салицилата и нафталина. Все созданные конструкции способны наследоваться в широком круге бактерий рода *Pseudomonas*, что обеспечивает возможность их использования для генетического анализа этой разнообразной таксономической группы микроорганизмов.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Сирицина В.С., Шуршалова Н.Ф., Зудина И.В.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия

viktorya.siritzina@yandex.ru

Необходимость разработки новых препаратов для борьбы с воспалительными заболеваниями тканей пародонта продиктована низкой эффективностью стандартной этиотропной терапии, часто наблюдаемой в клинической практике в последние десятилетия. Как полагают, это связано с высокой скоростью адаптации бактериальной микрофлоры к используемым антибактериальным препаратам.

Целью работы явилось изучение биоцидной активности серебросодержащих препаратов в отношении пародонтопатогенных микроорганизмов *in vivo*.

Объектом исследования являлись зубной налет, десневая жидкость и жидкость пародонтальных карманов, собранные у людей (40 чел.) с воспалительными заболеваниями пародонта (ВЗП) до и после лечения серебросодержащими препаратами: «Colloidal Silver» (компания «Nature's Sunshine Products», США); «Витаргол» (ООО НПЦ Вектор-Вита, Новосибирск, РФ); «Аргогель» (ООО НПЦ Вектор-Вита, Новосибирск, РФ); «Аргакол» (ООО «Сирена», Санкт-Петербург, РФ). Препараты апплицировали на десневой край ежедневно в течение 10-ти дней по 15 мин. В качестве контроля использовали десневую жидкость и зубной налет, полученные от практически здоровых лиц (20 чел.). ДНК маркерных пародонтопатогенных видов бактерий (*Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*) выявляли с помощью набора реактивов «Мультидент-5» методом полимеразной цепной реакции.

Было установлено, что видовой состав основных пародонтопатогенов коррелировал с клиническим состоянием тканей пародонта. У пациентов с ВЗП наиболее часто выявлялась ДНК пародонтопатогенов *P.gingivalis* и *B.forsythus*, отличающихся особо агрессивным действием на ткани пародонта, а также наблюдалось повышение частоты обнаружения ДНК

A. achinomycetemcomitans - микроорганизма, обуславливающего выраженную деструкцию тканей пародонта. Проведенное исследование выявило существенные различия в антимикробной активности серебросодержащих препаратов. Лучшие результаты продемонстрировали препараты кластерного серебра «Витаргол» и «Аргогель». Данные препараты могут быть рекомендованы для применения в комплексной терапии при лечении заболеваний пародонта.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ ФАГОВОЙ ТРАНСДУКЦИИ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК В КИШЕЧНИКЕ МЫШИ

Скобlikов Н.Э.¹, Панченко Н.А.², Дьяченко И.А.², Мурашев А.Н.², Зимин А.А.^{1,3}

¹ГНУ Северо-Кавказский НИИ животноводства, Краснодар; ²Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ³ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия

skoblikow@yandex.ru

Для изучения возможности повышения частоты трансдукционного переноса плазмид бактериофагом *E.coli RB43* между штаммом-донором и штаммом-реципиентом в кишечнике мыши мы варьировали концентрацию обоих штаммов и бактериофага. Концентрацию *E.coli* варьировали в 2, 4 и 10 раз от исходной, концентрацию фага в 2, 4, 10 и 50 раз от исходной, при которой получили наибольшую частоту трансдукционного переноса. При одновременном увеличении концентрации как бактериофага, так и клеток штамма-реципиента в 4 раза при неизменной концентрации клеток штамма-донора нам удалось получить 142 клонотрансдуктанта. То есть, нам не удалось показать существенно большей частоты трансдукции. По результатам наиболее успешного опыта была получена частота $1,4 \times 10^{-3}$. Мы провели выделение ДНК из всех 142 клонов-трансдуктантов, полученных в опыте с максимальным выходом. Из 40 клонов не удалось выделить плазмидную ДНК. Из этого набора 19 клонов были устойчивы только к ампициллину, 14 только к тетрациклину, 7 – к обоим антибиотикам. Выделенная из этих клонов хромосомная ДНК гибридизовалась с зондом плазмиды pBR322, меченой фосфором. Мы исследовали 102 плазмиды, выделенные из остальных полученных клонов. 83 клонотрансдуктанта содержали плазмиды нормального размера, 14 клонов содержали димеры исходной плазмиды и 5 клонов плазмиды большего размера, чем димеры. Гидролиз ДНК этих плазмид рестриктазами *BamHI* и *EcoRII* показал, что все эти плазмиды не содержат вставок чужеродной ДНК (бактериальной или фаговой).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 13-04-00991-а.

ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Скорлупкина Н.Н.^{1,2}, Громовых Т.И.¹, Блинкова Л.П.²

¹ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, ²ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва, Россия

nadezhdaskorlupkina@gmail.com

Изучение и поиск новых пребиотических средств, направленных на решение вопросов профилактики и коррекции дисбактериозов является одной из важных задач современной медицинской биотехнологии. Исследованиями ряда авторов показано, что бактериальная целлюлоза по структуре похожа на целлюлозу растений, но отличается по числу глюкозных остатков. Это делает ее не просто пищевым волокном, а уникальным наноматериалом. Бактериальная целлюлоза не расщепляется пищеварительными ферментами в верхних отделах желудочно-кишечного тракта и в неизменном виде достигает толстого кишечника, где может стимулировать рост и повышать биологическую активность пробиотической микрофлоры кишечника.

Целью настоящей работы было изучение пребиотических свойств бактериальной целлюлозы, синтезируемой продуцентом *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008. Пребиотические свойства исследовали на тест-объектах – пробиотических штаммах *Escherichia coli* M-17, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* 729 из коллекции культур НИИВС им. И.И. Мечникова.

Эксперимент проводили в двух вариантах. В первом оценку пребиотических свойств проводили путем культивирования тест-объектов на жидких питательных средах, в которых основным источником углерода служила бактериальная целлюлоза. Во втором варианте оценку пребиотических свойств проводили путем культивирования тест-штаммов на плотной «голодной» среде, на поверхность которой раскладывали пленку бактериальной целлюлозы. Контролем являлись аналогичные среды без добавления бактериальной целлюлозы. Учет результатов проводили по величинам КОЕ/мл и оптической плотности. Результаты исследований показали, что бактериальная целлюлоза утилизировалась пробиотическим штаммом *E. coli* M-17: в вариантах с биополимером численность штамма составила $2,2 \times 10^8$ КОЕ/мл, тогда как в контроле – $7,64 \times 10^7$ КОЕ/мл. Для штамма *Lactococcus lactis* 729 бактериальная целлюлоза являлась стимулятором к повышению ростовой активности. Так, численность штамма *Lactococcus lactis* 729 увеличилась в 3,3 раза КОЕ/мл в сравнении с контролем, однако, биополимер штамм не утилизировал. Ростовые свойства культуры *Lactobacillus acidophilus*, оцененные по оптической плотности, были в 3,3 раза выше при культивировании с биополимером, в сравнении с контролем.

Таким образом, с использованием 3-х штаммов пробиотических микроорганизмов подтверждены пребиотические свойства бактериальной целлюлозы.

РОСТ АКТИНОБАКТЕРИИ *RHODOCOCCLUS OPACUS* 1CP НА БЕНЗОАТЕ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Соляникова И.П., Головлева Л.А.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

Golovleva@IBPM.pushchino.ru

Изучено влияние окислительного стресса на биодеградативную активность актинобактерии *Rhodococcus opacus* 1CP с использованием ряда окислителей, включая перекись водорода (H_2O_2) в разных концентрациях (25-200 мМ), юглон, нафтохинон, и протектора, кверцетина. В качестве контроля использовали культуру клеток данного штамма, выращенную на бензоате натрия (300 мг/л). Показано, что одновременное внесение бензоата и H_2O_2 в диапазоне концентраций 50-200 мМ подавляло рост клеток. Клетки, выращенные на бензоате натрия до оптической плотности (ОП) 0,8-1 ед, проявляли несколько повышенную устойчивость к стрессовому воздействию окислителя - 50 мМ H_2O_2 также не влияла на скорость роста культуры.

Установлено, что для неадаптированной культуры критичным являлось внесение перекиси водорода в концентрации 100 мМ. Это вызывало задержку роста до 9 часов, однако далее количество колониеобразующих единиц возрастало, хотя и оставалось меньше, чем в контроле. Установлено, что предварительное культивирование клеток *R. opacus* 1CP в присутствии сублетальных концентраций H_2O_2 (1 и 5 мМ) приводило к адаптации клеток к тем концентрациям окислителя, которые вызывали гибель неадаптированных клеток. Например, после прединкубации сохранялась способность клеток к росту на бензоате в присутствии H_2O_2 в концентрации до 150 мМ. Без предварительной адаптации эта концентрация окислителя являлась для клеток летальной.

Юглон (5-окси-1,4-нафтохинон) в концентрации 5-25 мМ не оказывал на рост культуры ингибирующее воздействие. Для сравнения, рост клеток дрожжей полностью ингибировался при концентрации 30 мМ. 2-метил-1,4-нафтохинон в концентрациях 1 и 10 мМ и кверцетин в концентрациях 1 и 10 мМ не ингибировали рост культуры *R. opacus* 1CP в присутствии бензоата натрия, но вызывали физиологический и биохимический ответ культуры.

Работа поддержана грантами РФФИ № 12-04-90007-Бел_а и РФФИ № 14-04-90045-Бел_а.

CLAVIBACTER MICHIGANENSIS SUBSP. SALSOLUS SUBSP. NOV. ИЗ МИКРОБИОМА SALSOLA SP. (СОЛЯНКА), ПУСТЫНЯ КЫЗЫЛ-КУМ

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

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Всероссийская коллекция микроорганизмов, ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, ³Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

iri-starodumova@yandex.ru

Актинобактерии рода *Clavibacter* Davis et al. 1984 (сем. *Microbacteriaceae*) – аэробные, неспорообразующие, неправильные палочки, содержащие пептидогликан Б-типа и преобладающий менахинон МК-9 в дыхательной цепочке. В настоящее время в составе рода описан единственный вид – *Clavibacter michiganensis*, включающий шесть подвидов (*michiganensis*, *insidiosus*, *nebraskensis*, *phaseoli*, *sepedonicus*, *tessellarius*), которые имеют высокий уровень сходства 16S рРНК генов (99.4–99.9%). Все подвиды известны как возбудители сосудистых заболеваний сельскохозяйственных культур (томата, люцерны, кукурузы, фасоли, картофеля, пшеницы). Подвиды *michiganensis*, *insidiosus* и *sepedonicus* являются карантинными объектами во многих странах мира.

Изученный нами штамм ВКМ Ас-1371, сохраняемый в ВКМ, выделен из надземной части растения без видимых симптомов заболевания (*Salsola* sp., солянка, Узбекистан). Штамм имеет высокое сходство с типовыми штаммами подвидов *C. michiganensis* по генам 16S рРНК (99.1–99.4%), но отличается от них по компонентам МАЛДИ масс-спектров, составу сахаров клеточной стенки и ряду физиолого-биохимических признаков. На основе мультилокусного анализа генов β-субъединицы ДНК-гиразы (*gyrB*), рекомбиназы А (*recA*) и β-субъединицы РНК-полимеразы (*rpoB*), найденных в секвенированном нами геноме ВКМ Ас-1371 и доступных из GenBank (для типовых штаммов подвидов), установлено, что изученный штамм занимает обособленное филогенетическое положение. Уровни его сходства с подвидами по генам *gyrB* (93.1–95.0%), *recA* (94.2–95.5%) и *rpoB* (97.9–99.0%) не превышают сходства между известными подвидами *Clavibacter* (94.5–97.6%, 94.8–98.6% и 98.1–99.2%).

В геноме ВКМ Ас-1371 мы не обнаружили гомологичных последовательностей для генов, кодирующих детерминанты патогенности (целлюлазу и различные протеазы) у патогенных штаммов *C. michiganensis* – *celA*, *pat-1* (локализованных на плаزمиде рСМ1 и рСМ2), *chpC* и *rraA* (расположенных в регионе *chp/tom* хромосомы).

Полученные данные позволяют заключить, что изученный штамм является представителем нового (непатогенного) подвида *C. michiganensis* согласно существующей в настоящее время системе классификации. Однако таксономические исследования последних лет, включая анализ полных геномов, свидетельствуют о том, что статус подвидов *C. michiganensis* соответствует рангу видов. Соответственно, штамм ВКМ Ас-1371 может быть описан в качестве нового вида рода *Clavibacter*. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-31825.

ИНГИБИТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ *VACILLUS* *SUBTILIS* НА ОСНОВЕ ТИОПРОИЗВОДНЫХ 2(5Н)-ФУРАНОНА

**Тризна Е.Ю., Хакимуллина Э.Н., Байдамшина Д.Р., Курбангалиева А.Р.,
Каюмов А.Р.**

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

trizna91@mail.ru

Грамположительные бактерии вызывают широкий спектр инфекционных заболеваний, в том числе и внутрибольничные инфекции. В настоящее время показано, что большинство бактерий существуют в природе в виде специфически организованных биопленок. Биопленки представляют собой тесно адгезированное к субстрату сообщество дифференцированных микробных клеток, заключенных в полисахаридный матрикс (EPS). В составе биопленки бактерии становятся устойчивыми к антибиотикам и иммунной системе организма человека,

что вызывает трудности при лечении и определяет необходимость разработки ингибиторов формирования биопленки. Бациллы, грамположительные спорообразующие палочки, например, *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus*, являющиеся причиной развития сибирской язвы и тяжелых пищевых отравлений, также образуют биопленки на различных поверхностях. В качестве модельного объекта для изучения бациллярных биопленок широко исследуются клетки *Bacillus subtilis*. В настоящее время для борьбы с бактериальными биопленками используют покрытие поверхностей частицами серебра, иммобилизованными ферментами, разрушающими матрикс биопленки, а также используют различные низкомолекулярные вещества – ингибиторы генов образования биопленок. Среди таких соединений особое место занимают вещества 2(5H)-фуранонового ряда.

В работе исследовано влияние новых синтезированных 2(5H)-фуранонов на формирование биопленок клетками бацилл. Из 57 исследованных соединений, серосодержащие производные 2(5H)-фуранона F12, F15 и F94 подавляли образование биопленки в концентрации 10 мкг/мл. Показано, что F12 и F94 подавляли биосинтез GFP с промотора *eps* оперона, кодирующего гены экспрессии экзополисахарида биопленки (EPS). Методом дифференциального флюоресцентного окрашивания установлено, что в присутствии F12, F15 и F94 значительно повышается чувствительность клеток бацилл к воздействию антибиотиков (канамицин и хлорамфеникол). Максимальный эффект демонстрировал F12. F15 эффективно разрушал уже сформированную биопленку и значительно повышал чувствительность бактерий к антибиотикам.

Таким образом, серосодержащие фураноны F12 и F15 могут представлять интерес для дальнейшей разработки на их основе соединений-ингибиторов бактериальных биопленок. Однако, их потенциальная мутагенная активность, выявленная в тесте Эймса, является противопоказанием для прямого использования и требует дальнейшей модификации структуры. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_а.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКОВОГО ГИДРОЛИЗАТА В СОСТАВЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Узбекова О.Р., Мухин В.А.

ФГБНУ Полярный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н.М. Книповича, Мурманск, Россия

uzbekova@pinro.ru

Среди известных в микробиологии питательных сред особое место занимают универсальные, на которых можно культивировать широкий спектр микроорганизмов. Для приготовления этих сред используют, как правило, сырьё природного происхождения.

В настоящее время проводятся исследования, связанные с возможностью использования белковых гидролизатов, полученных из нетрадиционного сырья, такого как отходы мясной, молочной и рыбной промышленности.

Целью данной работы является расчёт оптимальной концентрации белковых компонентов в составе питательной среды для роста микроорганизмов.

Для исследования был выбран сухой гидролизат, изготовленный из отходов филетирования трески *Gadus Morhua* (содержание общего азота – около 12 %, степень гидролиза белка около 42 %).

Для эксперимента использовали следующий состав питательной среды: 1 г/л сухого гидролизата, 6 г/л NaCl, 15 г/л агар-агара.

Далее методом десятикратных разведений получали среды с меньшей концентрацией гидролизата: 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001. В качестве контрольной использовали среду Эндо следующего состава: мясопептонный агар, лактоза, фуксин, сульфит натрия (Na₂SO₃), динатрия фосфат, карбонат натрия.

В качестве тест-культур использовали микроорганизмы родов *Salmonella* sp. и *Escherichia* sp. Объём вносимой культуральной жидкости исследуемых микроорганизмов составлял 0,04 мл. Чашки Петри с посевным материалом культивировали 24 часа при температуре 37 °С, после чего производили подсчёт выросших колоний и исследовали их морфолого-культуральные и биохимические свойства.

Установлено, что численность выросших микроорганизмов родов *Salmonella* sp. и *Escherichia* sp. убывала с уменьшением количества гидролизата. При концентрации гидролизата 0,0001 г/л и менее рост не наблюдался.

Оптимальные значения количества гидролизата для роста исследуемых тест-культур находились в диапазоне 0,01-0,001 г/л.

Изменения по морфолого-культуральным и биохимическим свойствам микроорганизмов родов *Salmonella* sp. и *Escherichia* sp., культивированных как на контрольной среде, так и на новой опытной питательной среде с различными концентрациями гидролизата, не отмечались.

Таким образом, в результате проведенных исследований было определено, что полученная опытная питательная среда на основе белкового гидролизата, полученного из отходов филетирования трески, может быть использована для роста микроорганизмов родов *Salmonella* sp. и *Escherichia* sp.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ СУЛЬФИТА (SO₃) В РАСТУЩИХ КУЛЬТУРАХ *ESCHERICHIA COLI*

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

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, ²ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

ushakovvad@yandex.ru

Известно, что при дыхании у бактерий *E. coli* может происходить одноэлектронное восстановление молекулы кислорода с образованием анионного радикала супероксида O₂^{·-}. Окисляя железосерные кластеры ферментов в цитоплазме, O₂^{·-} увеличивает концентрацию свободного железа и способствует протеканию реакции Фентона с образованием токсичных гидроксильных радикалов, повреждающих все биологические молекулы. Избыток O₂^{·-} приводит также к нарушению проницаемости мембран и вытеканию из клеток аминокислот и сульфита, промежуточного продукта при синтезе цистеина. Нейтрализация O₂^{·-} в цитоплазме осуществляется с участием Mn- и Fe-супероксиддисмутаза. Супероксид, образуемый в периплазме в результате аутоокисления дигидроменахинона в дыхательной цепи, нейтрализуется с участием периплазматической Cu,Zn-супероксиддисмутазы SodC. Помимо ферментов, в защите от O₂^{·-} могут участвовать низкомолекулярные антиоксиданты, в частности глутатион (GSH), который в аэробно растущих культурах *E. coli* непрерывно циркулирует между клетками и средой.

Целью данной работы было исследование влияния дефектов в генах, продукты которых могут модифицировать уровень периплазматического O₂^{·-}, на выход сульфита из клеток *E. coli*. В качестве объекта исследований использовали бактерии *E. coli* родительского типа и делеционные мутанты по генам, кодирующим первый фермент синтеза глутатиона (*gshA*), супероксиддисмутазу (*sodC*), менахинон (*menA*), а также двойной мутант *sodCgshA*. Бактерии выращивали в аэробных условиях на минимальной среде M9 с глюкозой до OD₆₀₀ = 0.4, после чего измеряли уровень сульфита. Минимальная концентрация сульфита была обнаружена в среде культивирования бактерий родительского типа (0.49 ± 0.07 μM). В других штаммах *E. coli* базовый уровень сульфита зависел от характера мутации: от 0.96 ± 0.03 (μM) у *E. coli gshA* до 1.87 ± 0.07 (μM) у двойного мутанта *sodCgshA*. Концентрация сульфита в мутантах *sodC* и *menA* составляла 1.05 ± 0.03 μM и 1.13 ± 0.03 μM, соответственно. Не наблюдалось значительных изменений уровня SO₃²⁻ в течение культивирования у всех штаммов, за исключением мутанта *gshA*, у которого концентрация сульфита в среде возрастала в 2.5 раза за 75 минут культивирования. Таким образом, дефицит GSH и периплазматической SOD способствовал ускоренному вытеканию сульфита из клеток, что может быть следствием повышения проницаемости мембран. Поскольку сульфит является сильным восстановителем, возможно, что он принимает участие в нейтрализации активных форм кислорода в периплазме.

Исследование выполнено при поддержке грантами МКБ, а также РФФИ №13-04-00706 и РФФИ-Урал № 13-04-96039.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА МОРФОЛОГИЮ И УЛЬТРАСТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ШТАММОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ

Федченко В.А.¹, Поливцева В.Н.², Росс Д.В.², Холоденко В.П.¹, Сузина Н.Е.²

¹ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт,
²ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

vera.fedchenko.1991@mail.ru

Проведено сравнительное ультраструктурное исследование 3-х штаммов ультрамикробактерий (УМБ) – представителей различных филогенетических групп из коллекции лаборатории Цитологии микроорганизмов ИБФМ РАН. В качестве модельных штаммов были отобраны: грамотрицательные бактерии рода *Kaistia* sp., штамм NF1 (класс *Alphaproteobacteria*, филум *Proteobacteria*) (1); грамотрицательные бактерии рода *Chryseobacterium* sp., штамм NF4 (класс *Flavobacteria*, филум *Bacteroidetes*) (2) и грамположительная бактерия рода *Microbacterium* sp. nov., штамм NF7 (класс *Actinobacteria*, филум *Actinobacteria* порядок *Actinomycetales*) (3). Проведенный сравнительный морфометрический анализ популяций клеток модельных штаммов УМБ позволил подобрать состав питательных сред и установить для каждого штамма индивидуальные физиологические условия, при которых формируются наиболее мелкие жизнеспособные клеточные формы (0.3-0.35 x 0.15-0.2 мкм), а также охарактеризовать особенности ультраструктурной организации клеток в этих условиях. Показано, что штамм NF1 образует ультрамелкие клетки преимущественно в экспоненциальной фазе роста на среде R2A, разбавленной в 5 раз. При этом клетки в этих условиях характеризуются не только малыми размерами и объемом, но также отличаются значительным увеличением числа и размеров периплазматических выростов – протрузий, характерных для этого штамма. Штамм NF7 образует ультрамелкие клетки преимущественно в условиях роста на среде LB. В цитоплазме клеток в этих условиях появляются внутрицитоплазматические везикулы (ВЦВ), которые локализуются на периферии вблизи полюсов клеток. ВЦВ не выявлялись в других условиях роста этого штамма. Штамм NF4 формировал ультрамелкие клетки на всех испытанных средах в экспоненциальной фазе роста.

Из природного биотопа, тундро-глеевой почвы (верхний гумусовый слой) выделена новая грамположительная ультрамикробактерия, штамм AV. Предварительные морфологические и ультраструктурные исследования новой УМБ показали, что клетки этого штамма отличаются очень толстой клеточной стенкой, толщина которой может значительно варьироваться в зависимости от состава среды. Морфометрический анализ позволил обнаружить, что объём цитоплазмы клеток штамма AV в среднем в два раза меньше объема их клеточных стенок.

Цитируемая литература:

Дуда с соавт. Микробиология. 2007. Т.76, №5, сс. 652- 661.

Сузина с соавт. Микробиология. 2011. Т. 80, №4, сс. 529-542.

Сузина с соавт. Прикладная биохимия и микробиология. 2015. Т. 51. № 2. сс. 151-160.

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ-АНТАГОНИСТОВ ДЛЯ БИОКОНТРОЛЯ ФИТОПАТОГЕНОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Хадиева Г.Ф., Лутфуллин М.Т.

Институт фундаментальной медицины и биологии, ФГАОУ ВПО Казанский
(Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

g.h95@mail.ru

Использование биопрепаратов для контроля фитопатогенов сельскохозяйственных культур является эффективной альтернативой применению пестицидов. Растения населены широким спектром микроорганизмов, обладающих антагонистической активностью, что вносит важный

вклад в формирование резистентности растений к различным фитопатогенам. Развитие современных экологических методов основано на поиске и создании эффективных биологических препаратов на основе микробных штаммов – бактерий антагонистов.

Целью работы было выделение ризосферной микрофлоры картофеля с антагонистической активностью в отношении фитопатогенных микроорганизмов. Для выделения микрофлоры корешки картофеля раскладывали на среде МПА и культивировали в течение 24 часов. Отбирали колонии бактерий, выросшие вблизи корешков. Чистые культуры бактерий идентифицировали на MALDI Biotyper (Bruker Daltonik). Антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным бактериям исследовали методом перпендикулярных штрихов, к микромицетам - методом блоков. Эффективность антагонистической активности бактерий оценивали по размеру зоны подавления роста фитопатогенов.

В результате было выделено 46 изолятов, 7 из которых показали антифунгицидную и антибактериальную активность в отношении фитопатогенов. Все эти активные изоляты были идентифицированы как штаммы *Bacillus subtilis* № 1-7. Для характеристики антифунгицидной активности штаммов в качестве тест культуры использовали микромицеты *Fusarium solani* – возбудитель сухой гнили картофеля. На среду Чапека выкладывали блок микромицета и на расстоянии 2,5 см раскладывали блоки агара с суточной культурой бацилл. Посевы анализировали через 3, 7 и 14 суток. Наиболее эффективно рост колонии микромицета ингибировал штамм №5 (на 57-60% от контроля). Остальные штаммы бацилл ингибировали рост микромицетов на 40-48%. Через 7 и 14 суток культивирования наблюдали ингибирование роста колонии *Fusarium solani* всеми бациллами на 50-66% от контроля.

Изоляты *B. subtilis* № 4 и 5 проявили высокую антагонистическую активность в отношении фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris*, *Pectobacterium atrosepticum* (подавляли рост на 47-49%).

Таким образом, выделенные изоляты *B. subtilis* проявляют высокую антифунгицидную и антибактериальную активность и могут быть использованы для биоконтроля фитопатогенов.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной КФУ для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 14-83).

ФОРМИРОВАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ У *MAGNETOSPIRILLUM GRYPHISHWALDENSE* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

Хохлова Г.В., Абашина Т.Н.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

galka889@gmail.com

К магнитотактным бактериям относятся водные прокариоты, принадлежащие к разным таксономическим группам, способные формировать внутри клетки металл-содержащие включения, которые обладают магнитными свойствами. Ядро включения представлено магнетитом Fe_3O_4 или грейгитом Fe_3S_4 и окружено трехслойной белок-специфичной мембраной. Механизм образования включений и их свойства еще изучаются и имеют не только фундаментальное значение, но и практическое. Одной из наиболее изученных магнитотактных бактерий является *Magnetospirillum gryphishwaldense* штамм *MSR-1*, выделенный из речных отложений Германии немецкими учеными (Schleifer, K., D. Schuler et al, 1991). Этот штамм нам был любезно предоставлен к.б.н. М.В.Дзюбой (Центр «Биоинженерия» РАН). Целью работы было изучение влияния комбинированного магнитного поля на магнитотактных бактерий.

Нами был проведен эксперимент по влиянию низкочастотного магнитного поля на *M. gryphishwaldense MSR-1*. Культуру выращивали в условиях: 1) комбинированного магнитного поля с параметрами $BDC = 46.0$ мкТл, $VAC = 84.6$ мкТл, $f=91$ Гц; и 2) в условиях геомагнитного поля (контроль). Культуру выращивали на среде Д. Шулера, модернизированной М.В. Дзюбой для данного штамма. Экспозиция культур в условиях магнитного поля и без него проводилась в неметаллических термостатируемых камерах (одна из которых находилась в катушке Гельмгольца, создающей магнитное поле) в течение 7 дней. По результатам количественного

учета микроорганизмов, численность клеток бактерий в магнитном поле через неделю инкубирования была в 2 раза выше, чем в контроле.

Цитологические исследования показали, что в условиях магнитного поля по периметру клетки (в переплазматическом пространстве и прикреплены к цитоплазматической мембране) формируются многочисленные электронно-плотные включения, отсутствующие в контрольном варианте. В контрольном варианте мы наблюдали только немногочисленные магнитные включения в центральной части клетки. Электронно-плотные включения в условиях приложенного магнитного поля имели формы глобул размером 20-30 нм.

Авторы выражают благодарность д.б.н. М.Б. Вайнштейну и к.б.н. Н.Е. Сузиной (ИБФМ РАН) за обсуждение работы; д.б.н. Н.А. Беловой и А.Б. Петрову (ИТЭБ РАН) за помощь в проведении эксперимента по воздействию магнитного поля.

Литература:

Schleifer K, Schuler D, Spring S, Weizenegger M, Amann R, Ludwig W, Kohler M (1991) The genus *Magnetospirillum* gen. nov., description of *Magnetospirillum gryphiswaldense* sp. nov. and transfer of *Aquaspirillum magnetotacticum* to *Magnetospirillum magnetotacticum* comb. nov. System Appl Microbiol 14: 379–385.

СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ НЕФТИ СИНТЕЗИРОВАТЬ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА

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

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

charnyauskayami@gmail.com

Существование в стрессовых условиях (в присутствии опасных органических и неорганических соединений, ионов тяжелых металлов и др.) обусловлено наличием у микроорганизмов уникальных систем метаболизма. В этом плане поистине неограниченными возможностями обладают почвенные бактерии, поскольку именно в почве происходит аккумуляция вредных для жизнедеятельности живых организмов соединений. Одним из способов, обеспечивающих селективное преимущество бактериям в загрязненных экосистемах, является их способность нейтрализовать действие ионов тяжелых металлов. При этом может происходить образование наночастиц, обладающих выраженными антимикробными свойствами. В зависимости от размера, формы и степени агрегации, наночастицы могут приводить к различным повреждениям клеточных структур (нарушения клеточной стенки, мембраны, молекул нуклеиновых кислот, инактивация ферментов) и вызывать гибель бактериальной клетки.

Изучение метаболического потенциала природных почвенных бактерий, способных утилизировать широкий спектр опасных органических соединений, является важным условием их практического использования. В частности, для биоремедиации загрязненных территорий.

Целью настоящей работы являлось изучение способности бактерий-деструкторов нефти синтезировать наночастицы серебра.

В результате анализа 22 штаммов-деструкторов нефти, было установлено, что бактерии *Bacillus* sp. FD4, *B. flexus* 6-3, *Dietzia* sp. 10-15, *Pseudomonas* sp. 10-1N, *Deinococcus* sp. A2-6, *Acinetobacter radioresistens* 5Аб, *A. radioresistens* L5А-16 обеспечивают внеклеточный синтез наночастиц серебра (образование наночастиц регистрировали при добавлении во внеклеточную культуральную жидкость раствора нитрата серебра в концентрации 1 ммоль/л). Спектрофотометрический анализ позволил установить, что образующиеся наночастицы имеют пик поглощения в диапазоне от 385 нм (синтезируются бактериями *B. flexus* 6-3) до 410 нм (синтезируются *Dietzia* sp. 10-15). С использованием метода просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) было показано, что бактерии *Dietzia* sp. 10-15 преимущественно синтезируют наночастицы размером 10-20 нм, а бактерии *B. flexus* 6-3 – наночастицы более мелкого размера (1-2 нм). Выявленная способность бактерий-деструкторов нефти синтезировать наночастицы серебра может свидетельствовать о наличии у данных микроорганизмов систем метаболизма, повышающих их конкурентоспособность в природной среде обитания.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ ШТАММОВ *MORGANELLA MORGANII* К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Шайдуллина Э.Р.¹, Шалавина М.А.², Марданова А.М.¹

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²Лечебно-диагностический центр «Биомед», Казань, Россия

Aoisora86@gmail.com

Morganella morganii относится к условно-патогенным бактериям семейства *Enterobacteriaceae* и является частым возбудителем оппортунистических инфекций верхних дыхательных путей, мочевыводящих путей, а также раневых поверхностей. Резистентность патогенных и условно-патогенных бактерий к антимикробным препаратам является серьезной проблемой, требующей усилий микробиологов, фармацевтов и клиницистов. Резистентные патогены являются причиной частых осложнений и хронического течения, а также чрезвычайно осложняют и удорожают терапию заболеваний.

Настоящая работа посвящена сравнительной характеристике устойчивости двух клинических изолятов *M. morganii* к перекиси водорода и антибиотикам. Штаммы №1 (негемолитический) и №4 (гемолитический) были выделены от урологических пациентов и идентифицированы на основании фенотипических признаков и гомологии 16 S рРНК. Для определения устойчивости к перекиси водорода бактерии культивировали на среде LB с добавлением H₂O₂ в конечных концентрациях от 0,5 до 20 мМ и определяли оптическую плотность при длине волны 450 нм. Об устойчивости судили по продолжительности лаг-фазы и способности бактерий восстанавливать рост в течение 6-часового культивирования. Устойчивость к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хилтона.

Выявлено, что оба штамма *M. morganii* устойчивы к 0,5-1 мМ перекиси водорода и восстанавливали рост на 3-й час культивирования в присутствии 2 мМ H₂O₂. Установлено, что негемолитический штамм *M. morganii* обладал высокой устойчивостью к активным формам кислорода: рост культуры не ингибировался даже в присутствии 20 мМ H₂O₂. В тоже время рост гемолитического штамма *M. morganii* 4 полностью ингибировался в присутствии 5 мМ H₂O₂.

Исследовали чувствительность штаммов к 12-ти антибиотикам. Показали, что оба штамма резистентны к ампициллину, цефазолину, азитромицину и доксициклину; и чувствительны к амикацину, ципрофлоксацину, гентамицину, нитроксолину, налидоксовой кислоте и нитрофурантоину. Бактерии различаются по чувствительности к цефтазидиму и цефатаксиму: *M. morganii* 1 чувствителен к этим антибиотикам, а *M. morganii* 4 резистентен.

Таким образом, клинические изоляты *M. morganii* различаются по гемолитической активности, устойчивости к активным формам кислорода и антибиотикам.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной КФУ для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 14-83).

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛЕЗНЫХ ДЛЯ АГРОТЕХНОЛОГИИ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАСТЕНИЯМИ ЗАСОЛЁННЫХ ПОЧВ

Шаравин Д.Ю., Ковалевская Н.П.

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

dima-sharavin@yandex.ru

В современном сельскохозяйственном производстве особое внимание уделяется использованию ассоциативных бактерий в качестве естественного стимулятора жизнестойкости и выносливости растений в стрессовых условиях. При избыточном засолении почвы перспективными объектами для биотехнологии считаются микроорганизмы синтезирующие фитогормоны, осмопротекторы, фиксирующие молекулярный азот, обладающие способностью к растворению связанного фосфора, улучшающие минеральное питание и т.д. В последнее время метилотрофные бактерии, ввиду естественных предпосылок к формированию устойчивых связей с растениями, часто рассматриваются как объекты для сельскохозяйственной биотехнологии.

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности синтеза микробных осмопротекторов и фосфатсолюбилизирующей активности у галотолерантных азотфиксирующих и метилотрофных бактерий, выделенных из филлосферы и ризосферы растений засоленных почв. Из образцов растений, произрастающих в зоне техногенного засоления г. Соликамска, были выделены штаммы метилотрофных (M1K, M7) бактерий и азотфиксаторов (A1, A7, A15), способных синтезировать микробный ауксин на среде с L-триптофаном. Методами классической филогении была определена таксономическая принадлежность выделенных культур микроорганизмов (*Pantoea vagans* A1, *Brucella* sp. A7, *Pantoea vagans* A15, *Methylophaga nitratireducenticrescens* M1K, *Paracoccus* sp. M7). Фосфатсолюбилизирующая активность, определявшаяся на агаризованной среде (при 0% и 1% NaCl) с метиловым красным, 40 mM CaCl₂ и 17 mM K₂HPO₄ по покраснению и просветлению агара, была обнаружена только у культур азотфиксаторов A1, A7, A15. При этом наибольшая интенсивность фосфатсолюбилизации была у культуры A1 при 0% NaCl. МАЛДИ-методом выявлена способность изолята M7 синтезировать полиаминокислоту с молекулярной массой мономера близкой к массам глутамин и лизина. Известно, что ряд аминокислот, включая глутамин, являются предшественниками осмопротекторов. В экспериментах с проростками пшеницы, при повышенном содержании соли, исследуемые культуры метилотрофов и азотфиксаторов оказали значительное положительное влияние на морфометрические параметры и содержание пигментов по сравнению с контролем. Таким образом, выделенные культуры микроорганизмов перспективно использовать в качестве естественного стимулятора жизнестойкости и выносливости растений в стрессовых условиях.

ПРОТЕАЗА HTRA ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* ПОДАВЛЯЕТ ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

**Шарафутдинов И.С.¹, Клингер-Штробель М.², Чернова Л.С.¹,
Гайнутдинова З.Р.¹, Каюмов А.Р.¹**

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

²Университетская клиника г. Йена, Германия

irwad@yandex.ru

Нормальная микрофлора кожи человека в некоторых случаях может являться причиной воспаления при кожных повреждениях, снижении иммунитета, низком уровне гигиены. Основными возбудителями эпидермальных инфекций человека выступают бактерии видов *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*, которые образуют биопленку на поверхности раны и замедляют процесс заживления. Одним из подходов к решению данной проблемы является включение протеиназ в состав средств обработки ран и перевязок для разрушения биопленки. Одним из успешных решений этих задач может являться использование протеиназ семейства HtrA – высокоспецифичных ферментов, протеолитическая активность которых модулируется температурой. Использование данного фермента в качестве ранозаживляющего агента потенциально позволит получить низкую токсичность препарата за счет специфичности к денатурированным белкам, а также позволит получить препарат, проявляющий максимум активности при повышенных температурах, наблюдаемых при воспалительных процессах.

Для очистки белка был получен штамм, обеспечивающий гиперпродукцию рекомбинантного белка HtrA, несущего Гис-таг на N-конце белка. Для этого ген *htrA* получали с помощью ПЦР с геномной ДНК *B.subtilis* 168 и клонировали в экспрессионный вектор pET15b. Полученной генетической конструкцией трансформировали штамм *E.coli* BL21. Очистку рекомбинантного белка HtrA с Гис-таг меткой проводили на Ni-NTA сефарозе. Белок был очищен в препаративных количествах до электрофоретической гомогенности.

Исследовали влияние белка HtrA-His6 на процесс образования биопленок бактериями *S.aureus* и *S.epidermidis*. Культуры клеток MSSA (Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*) и *S.epidermidis* инкубировались с белком HtrA в течении суток, затем с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа (Zeiss LSM 710, Germany) исследовали интенсивность и толщину образовавшейся бактериальной биопленки. В присутствии белка HtrA-His6 в концентрации 100мМ уровень роста биопленок обоих штаммов оказался значительно ниже по

сравнению с контролем без белка. Таким образом, рекомбинантный белок HtrA-His6 представляет интерес для дальнейших исследований в качестве ранозаживляющего препарата.

Авторы выражают благодарность Макаревич Оливии (Университетская клиника г.Иены) за возможность проведения экспериментов по исследованию биопленок.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_а.

ГАЛОТОЛЕРАНТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ КЛАССА *ACTINOBACTERIA* ИЗ ТЕХНОГЕННО-МИНЕРАЛЬНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ РАЙОНА ПРОМЫШЛЕННЫХ СОЛЕРАЗРАБОТОК

Шипова А.В.¹, Корсакова Е.С.², Шестакова Е.А.²

¹ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, ²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

she-lena1@yandex.ru

Верхнекамское месторождение калийно-магниевых солей (ВМКМС) является одним из крупнейших среди разрабатываемых в мире. В результате промышленной деятельности соледобывающих предприятий (ОАО «Уралкалий», Пермский край) формируются значительные объемы глинисто-солевых шламов, которые представляют собой сложные техногенно-минеральные образования (ТМО), содержащие широкий спектр экотоксикантов и органических соединений.

Цель работы – выделение и изучение доминирующей группы бактерий-деструкторов из техногенно-минеральных образований района солеразработок г. Березники (Пермский край).

Из пяти образцов ТМО методом прямого высева на агаризованную богатую среду (50г/л NaCl) было выделено 138 штаммов бактерий, которые в дальнейшем были объединены в 30 морфогрупп и идентифицированы на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Наиболее многочисленными по количеству клеток на 1 г исследованного образца являлись представители класса *Actinobacteria*. Среди них доминирующее положение занимала группа бактерий рода *Arthrobacter* (42% от общего количества изолятов). При этом по результатам сравнения фингерпринтов изолированных артробактеров, полученных методом ПЦР повторяющихся ВОХ-элементов, было показано, что все они имеют гетерогенные профили. Примерно равное количественное соотношение (~17%) среди всех изолятов имели актинобактерии родов *Rhodococcus* и *Dietzia*, и менее 8% составляли штаммы, принадлежащие другим родам – *Micrococcus*, *Kocuria* и *Streptomyces*.

Установлено, что все изолированные бактериальные культуры способны к росту на агаризованной среде как без добавления NaCl, так и с повышенной концентрацией соли до 60г/л. ряд изолятов рода *Arthrobacter* sp. BO25, *Streptomyces* sp BO38, *Micrococcus* BO37 были способны к росту в присутствии 120г/л хлорида натрия в среде культивирования.

При изучении биодegradативных свойств у ряда штаммов (*Rhodococcus* sp. BO1, *Arthrobacter* sp. BO25 и *Streptomyces* sp. BO38) отмечен активный рост на различных моно(поли)ароматических углеводородах, таких как нафталин, бифенил, орто-фталевая, бензойная и пара-гидроксibenзойная кислоты.

В результате проведенных исследований получены новые данные по филогенетическому и количественному соотношению представителей класса *Actinobacteria* в техногеннозасоленных экосистемах, которые в перспективе могут быть использованы в биотехнологических целях.

Работа выполнена при поддержке Программой УрО РАН «Молекулярная и клеточная биология», проект №15-4-4-13.

ВЛИЯНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* ПРИ МОДУЛЯЦИИ РЕДОКС-СТАТУСА КЛЕТКИ

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

¹ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, ²ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,
Пермь, Россия

verabiochem@gmail.com

Современные исследования показывают, что существующие в клетках энтеробактерий редокс-системы глутатиона и тиоредоксина, вносят определенный вклад в защиту клеток при повышении осмотического давления окружающей среды.

Целью нашей работы было выявить закономерности роста и индукции генных слияний *sodA::lacZ*, *katG::lacZ*, *katE::lacZ*, *katF::lacZ* у бактерий *Escherichia coli*, мутантных по компонентам редокс-систем глутатиона и тиоредоксина при гиперосмотическом шоке.

В качестве объектов исследования использовались генно-инженерные штаммы *Escherichia coli*: wt – родительский тип, *gshA*⁻ – мутантный по глутатиону, *gor*⁻ – мутантный по глутатионредуктазе, *trxA*⁻ – мутантный по тиоредоксину 1, *trxB*⁻ – мутантный по тиоредоксинредуктазе, *gshA*⁻*trxA*⁻ – мутантный по глутатиону и тиоредоксину 1, *gor*⁻*trxB*⁻ – мутантный по глутатионредуктазе и тиоредоксинредуктазе. Кроме того, для исследования экспрессии генов *sodA*, *katG*, *katE*, *katF* в условиях нарушенного редокс-статуса клетки, использовались мутанты, содержащие одновременно дефект по редокс-системе и слияние каждого промотора данных генов со структурным геном β-галактозидазы *lacZ*.

В условиях нормального роста, с наибольшей скоростью росли бактерии, дефицитные по синтезу глутатиона ($0,692 \pm 0,036$ час⁻¹), с наименьшей – мутанты *gor*⁻*trxB*⁻ ($0,483 \pm 0,025$ час⁻¹). Скорость роста в условиях осмотического шока зависела от характера мутации: низкая адаптация к действию осмолита регистрировалась у двойных мутантов *gshA*⁻*trxA*⁻ и *gor*⁻*trxB*⁻ ($0,24 \pm 0,015$ час⁻¹), а также у штамма, дефицитного по синтезу глутатионредуктазы ($0,256 \pm 0,009$ час⁻¹), что по отношению к скорости роста бактерий родительского типа в тех же условиях составило 40%. Исследования экспрессии генного слияния *sodA::lacZ* у представленных штаммов показали, что через 2 часа после внесения сахарозы уровень индукции максимально возрастал у мутанта *gor*⁻ и у бактерий, одновременно дефектных по синтезу глутатионредуктазы и тиоредоксинредуктазы. Минимальная экспрессия наблюдалась у штаммов *gshA*⁻ и *gshA*⁻*trxA*⁻. Исследования экспрессии генного слияния *katG::lacZ* показали, что при внесении осмолита в концентрации 0,8М экспрессия оставалась равной контролю, 0,4М экспрессия увеличивалась в 2 раза. У штаммов несущих слияния *katE::lacZ* и *katF::lacZ* при внесении 0,8М осмолита экспрессия увеличивалась в 2 и 1,2 раза соответственно.

Исследование выполнено при поддержке грантами РФФИ №13-04-00706, РФФИ-Урал_a №96039.

СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

OBTAINING AND CRYSTALLIZATION OF THE COMPLEX OF EUKARYOTIC TRANSLATION INITIATION FACTORS EIF2BETA AND EIF5

Arkhipova V.I., Stolboushkina E.A., Malyshevskaya K.K., Mitroshin I.V., Garber M.B.

Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

avalenti@rambler.ru

During initiation of protein synthesis in eukaryotic cells the heterotrimeric translation initiation factor 2 (eIF2 alpha, beta, gamma) plays a pivotal role in delivering initiator methionyl-tRNA to the small ribosomal subunit. Upon mRNA start codon recognition GTP on eIF2 is hydrolyzed to GDP, which is stimulated by the GTPase activator protein (GAP) eIF5, and complex eIF2•GDP•eIF5 leaves the ribosome. In this complex eIF5 plays a role of GDP dissociation inhibitor (GDI), necessary for tight control of translation initiation.

Monomeric protein eIF5 consists of two independently folded domains connected by a “linker region” (LR). The structures of both eIF5 domains are known. N-terminal domain (NTD) of eIF5 is responsible for the GAP function evidently through interaction of eIF5-NTD with the gamma subunit of eIF2. C-terminal domain (CTD) of eIF5 mediates binding to eIF2beta and together with LR is responsible for GDI activity.

Complex eIF2•eIF5 is functionally important component of initiation translation system and its structure is of a great interest. In this work we investigate the interaction between eIF2beta and eIF5 from *Saccharomyces cerevisiae*. Nowadays the structure of eIF2beta is unknown; there is only structure of its archaeal homologue aIF2beta which corresponds to the C-terminal domain of eIF2beta. Recent physical-chemical studies showed that eIF2beta-NTD is disordered in the isolated state but folds into a definite structure when bound to eIF5-CTD. Therefore crystallization of eIF2beta in complex with eIF5 should stabilize the eIF2beta conformation. In the frame of this work we obtained samples of complexes eIF2beta•eIF5-CTD and eIF2beta-NTD•eIF5-CTD and screened crystallization conditions. We managed to obtain crystals of eIF2beta-NTD•eIF5-CTD complex. However they diffracted X-rays only to low resolution. At present we improve purification procedures for the complexes and optimize crystallization conditions to get better quality crystals.

This research was supported by the Program of Russian Academy of Sciences on Molecular and Cellular Biology and the Russian Foundation for Basic Research (grant № 14-04-31030 mol_a).

ASSOCIATION OF STATUS HER-2/NEU WITH POLYMORPHISM P72R (TP53, rs1042522) IN WOMEN WITH BREAST CANCER

Kipen V.N., Melnov S.B.

International Sakharov Environmental University, Minsk, Belarus

slavakipen@rambler.ru

Among the structure of all kinds of malignant tumors of female population in Belarus breast cancer contribution reached the point of 17,7%. According to the data of the Belorussian cancer register each year the increasing frequency of new cancer cases is being demonstrated (for the amount of female population of 100 000 individuals). During the 2003-2012 years the growth of the primary disease was indicated from 61,7 to 76,6 (Belorussian cancer register Minsk, 2013 – p. 374).

The role of *TP53* gene into oncopathology development has long been known and the investigations dedicated to the single nucleotide polymorphism (SNP) R72P (rs1042522) and risk of breast cancer development correlation and further survival rate depending on the chemio- and radio therapy, were held by Breast Cancer Association Consortium in early 2006 year. Also, there are investigations dedicated to the gene *TP53* polymorphic variations and the Her-2/neu gene expression level correlation, connected with breast cancer (Bayraktar S., 2014; Davis NM, 2014; Dobes P., 2014; Silwal-Pandit L., 2014).

The attempt to estimate the Her-2/neu expression level and the results of genotyping of SNP R72P correlation was undertaken by us. The detailed characteristic of the patient groups suffering from

breast cancer (monolateral and bipolar forms) is depicted in our previous investigation (Molecular diagnostic - 2014, Russia, Moscow, V.2, p.107-109).

According to the results obtained in the group “All breast cancer cases” statistically significant differences were discovered for the Her-2/neu expression level: among all the patients 62,5 was detected as genotype GG in SNP P72R, at the same time the genotypes CC/CG were detected only in 37,5% of cases. For the patients out of the “Monolateral breast cancer” the Her-2/neu=2 expression level with the GG genotype was found in 57,1% of cases, and the CC/CG genotype – in 42,9% of cases.

Thus, we detected the statistically significant differences between the Her-2/neu expression level and the genotyping results for the SNP P72R (*TP53*, rs1042522). But for the present moment we cannot provide the detailed characteristic of the related correlation. Still, we are planning to investigate this issue in future.

RNA-INTERFERENCE DETECTION SYSTEM: T-TYPE CALCIUM CHANNEL CASE

Shtefan N.L.^{1,2}, Batiuk M.U.¹, Boldyrev O.I.^{1,2}, Dosenko V.E.², Shuba Y.M.^{1,2}

¹International Center of Molecular Physiology, NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine; ²Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine

akademicusn@gmail.com

It is known that expression level of Cav3.2 T-type calcium channel changes in development, in epilepsy and some other pathological conditions. In silico analysis predicts that MicroRNA, miR-1, may potentially regulate Cav3.2-channel expression. We have recently shown that Cav3.2 calcium channel mRNA expression in various rat brain structures during development as well as during acquisition of epileptic activity is in inverse correlation with the amount of miR-1: low Cav3.2 mRNA correlated to high miR-1 of and vice versa. Thus, in the current study we asked whether or not such correlation translates into changes of Cav3.2-channel function. We have transfected HEK-293 cells with two vectors containing Cav3.2-channel and miR-1 cDNA sequence. Control HEK-293 cells were transfected with two vectors containing Cav3.2 channel cDNA sequence and scrambled siRNA. Using patch-clamp technique we recorded calcium currents through expressed channels and evaluated current density – indirect characteristic of channel protein amount. In all types of transfected HEK-293 cells we observed specific Cav3.2-mediated T-type calcium currents and miR-1 expression, suggesting proper operation of our experimental system. However, we were unable to detect significant differences in calcium currents of miR-1-expressing cells comparing to control. One explanation for this may be a possibility that the Cav3.2 protein is synthesized faster than microRNA becomes mature. To resolve this issue we will use psiCHECK-2 vector with luciferase coding sequence and 3'UTR sequence of Cav3.2 channel mRNA where the expression of luciferase depends on RNA-interference with miR-1.

COMPARISON OF TWO TRANSIENT TYPE OF TRANSFECTIONS: WHO WINS?

Zhubanova G.S., Kulyyassov A.T.

National center for biotechnology, Astana, Kazakhstan

gulsamal@gmail.com

Transfection is an indispensable tool in molecular biology based on introduction foreign nucleic acids into cells for the investigation of variety of genes. The introduced genetic materials, for instance DNA, exist in cells either stably or transiently depending on the nature of the genetic materials. Stable transfection is characterized by integration into the genome of host. As part of genome this DNA is passed to the all daughter cells during replication. In comparison to stable transfection, transiently transfected genes are expressed for a short period of time and are not integrated into the genome. Having introduced by transient transfection, genetic material can be lost by the time, so the choice of stable or transient transfection depends on the aim of the experiment. Three methods of transfection are widely used: reagent-based (Ca²⁺ ions, lipids, DEAE-dextran), instrument-based (electroporation, biolistic technology, microinjection) and viral-based. The aim of our research work was the

comparison of two reagent-based transient transfection: Ca^{2+} ions and lipofectamine™2000 (Invitrogen). HEK293T cells were transfected by GFP-containing vector under the CMV promoter using different concentrations of DNA and different time of incubation. After 48 hour, GFP expression was evaluated by Carl Zeiss Axioobserver A1 microscope and efficiency of transfection was calculated using ImageJ program. Having tested two reagent-based methods we observed that transfection by lipofectamine have shown better results in comparison to CaCl_2 method. However, we observed that extended time of incubation of DNA with CaCl_2 increases the formation of DNA- Ca^{2+} complexes which was reflected on the expression of GFP. Using different concentration of DNA and different time of incubation did not show us significant differences in case of lipofectamine, whereas differences were observed in case of CaCl_2 method.

РОЛЬ PAK1- α -PI3-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Авилова Е.А.

ФГБНУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина,
НИИ канцерогенеза, Москва, Россия

k_avilova@mail.ru

В работе исследовалась роль серин-треониновой протеинкиназы PAK1 в регуляции пролиферации клеток рака молочной железы. Известно, что PAK1, являясь «downstream» эффектором α -Pik-Rac1(Cdc42), в то же время фосфорилирует α -Pik по серину в 488 положении, однако значение этого фосфорилирования в реализации действия PAK1 остается неясным.

Настоящие эксперименты проводились на культивируемых *in vitro* линиях клеток эстрогензависимого (MCF-7) и эстрогеннезависимого (HBL-100) рака молочной железы. Для анализа роли PAK1 в регуляции пролиферации клетки культивировали в присутствии специфического ингибитора PAK1 - IPA-3. Для изучения рост-стимулирующих эффектов PAK1- α -Pik-сигнального пути проводилась транзиторная трансфекция клеток плазмидными конструкциями, содержащими дикий вариант гена PAK1, дикий вариант гена α -Pik или мутантный - с заменой серина в 488-ом положении на аланин (препятствует фосфорилированию киназой Pak1). Активность транскрипционных факторов AP-1-, TCF/LEF и Snail1 определяли методом репортерного анализа; уровень экспрессии PAK1 – методом иммуноблоттинга.

Мы показали, что подавление PAK1 приводит к выраженному торможению роста в большей степени ER-негативных клеток, отличающихся высоким уровнем экспрессии PAK1. При изучении рост-стимулирующих эффектов PAK1 и α -Pik было установлено, что α -Pik стимулирует активность бета-катенина и не влияет на AP-1 в обеих линиях клеток, но стимулирует трансрепрессорную активность Snail1 только в ER-негативных клетках HBL-100. Мы показали, что замена в α -Pik серина в 488-ом положении на аланин приводит к снижению трансрепрессорной активности Snail1, свидетельствуя о важной роли Pak1-зависимого фосфорилирования α -Pik в стимуляции трансрепрессорной активности Snail1.

В целом, полученные результаты свидетельствуют, что PAK1 является одним из факторов, необходимых для поддержания роста клеток рака молочной железы, в большей степени – клеток эстрогеннезависимого рака молочной железы; реализация митогенного действия PAK1, во всяком случае в эстрогеннезависимых клетках, опосредована фосфорилированием α -Pik и активацией Snail1-сигнального пути.

Работа поддержана РФФИ проект № 14-04-00023.

ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ СВОЙСТВА GRE-ПОДОБНЫХ ФАКТОРОВ РАДИОУСТОЙЧИВОЙ БАКТЕРИИ *DEINOCOCCUS RADIODURANS*

Агапов А.А.^{1,2}, Есюнина Д.Е.¹, Кульбачинский А.В.^{1,2}

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, ²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

al.a.agapov@gmail.com

Активность бактериальной РНК-полимеразы (РНКП) на всех стадиях транскрипционного цикла регулируется различными белковыми факторами. Среди этих белков особое место занимают факторы, которые способны напрямую влиять на катализ. К их числу относятся Gre-факторы, основной функцией которых является стимуляция эндонуклеазного расщепления РНК в активном центре фермента. Эта реакция играет важную роль в исправлении ошибок транскрипции. В составе Gre-факторов выделяют два домена: С-концевой связывается на поверхности РНКП, а N-концевой достигает активного центра РНКП и участвует в координировании каталитического иона Mg²⁺.

Гомологичные Gre-факторам белки Gfh были обнаружены только у экстремофильных бактерий филума *Deinococcus-Thermus*. В отличие от Gre-факторов, Gfh1-фактор термофильной бактерии *Thermus thermophilus* ингибирует как синтез, так и расщепление РНК *in vitro*. Активность этого белка сильно зависит от кислотности среды: при пониженных значениях pH Gfh1-фактор *T. thermophilus* ингибирует активность РНКП эффективнее. Было показано, что решающую роль в функциональных различиях данных факторов играют различия в структуре петли N-концевого домена, взаимодействующей с активным центром РНКП.

В геноме радиорезистентной бактерии *Deinococcus radiodurans* закодированы два Gfh-фактора: Gfh1 и Gfh2. Последовательность петли N-концевого домена данных белков отлична как от Gre-факторов, так и от Gfh1-фактора *T. thermophilus*.

В данной работе мы исследовали влияние ранее не изученных Gfh1 и Gfh2-факторов *D. radiodurans* на активность РНКП *D. radiodurans* на стадиях инициации и элонгации транскрипции в *in vitro* системе. Было установлено, что, в отличие от Gfh1-фактора *T. thermophilus*, исследуемые белки гораздо слабее ингибируют активность РНКП на стадии инициации и практически не оказывают влияния на полимеразную и эндонуклеазную активности фермента в процессе элонгации. Кроме того, pH-зависимость активности белков Gfh1 и Gfh2 *D. radiodurans* выражена гораздо слабее, чем у Gfh1-фактора *T. thermophilus*. Анализ свойств мутантных вариантов Gfh1-фактора *D. radiodurans* показал, что функциональные различия не связаны с различиями в структуре N-концевого домена Gfh-факторов. Возможно, причины данных различий следует искать в том числе и в строении РНКП этих бактерий. Таким образом, влияние Gfh-факторов близкородственных бактерий на транскрипцию сильно различается, что повышает интерес к выяснению биологической роли данных белков в клетках экстремофильных бактерий филума *Deinococcus-Thermus*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-14-01074.

ВКЛАД ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DBH-AS1 В ПАТОГЕНЕЗ ПАНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ И МИГРЕНИ

Анучина А.А.¹, Скоробогатых К.В.², Сергеев А.В.^{3,2}, Афончикова Е.В.¹,
Кондратьева Н.С.¹

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

²ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет

им. И.М. Сеченова; ³Университетская клиника головной боли, Москва, Россия

arinate@mail.ru

Такие неврологические заболевания, как мигрень и паническое расстройство, широко распространены среди населения. Литературные данные указывают на участие в патофизиологии заболеваний дофаминергической системы. Дофаминбетагидроксилаза, фермент, необходимый для синтеза норадреналина из дофамина, кодируется геном DBH,

антисенс-транскрипт этого гена кодирует ген *DBH-AS1*, участвуя, таким образом, в регуляции экспрессии гена *DBH* с помощью РНК-интерференции.

В нашей работе проводился анализ двух однонуклеотидных замен, rs2067629, rs6271 в гене *DBH-AS1*, для этого использовали такие методы, как ПЦР-ПДРФ и аллель специфичная ПЦР в реальном времени. В анализе участвовали три выборки: пациенты с мигренью (146 пациентов), паническими расстройствами (124 пациента), контрольная выборка (373 необследованных жителя Москвы и Московского региона).

В результате для указанных SNP не было обнаружено ассоциации с заболеваниями ($p > 0,3$ во всех случаях). Проведенный анализ комплексных гаплотипов показал, что сочетание аллелей rs2097629:T+rs6271:C повышает риск развития мигрени в 1,95 раз.

Таким образом, нами не было выявлено ассоциации с мигренью или паническим расстройством для каждого полиморфизма в отдельности. Однако имеет место совместное влияние замен rs2067629, rs6271 в гене *DBH-AS1* на развитие мигрени.

КОНСТРУИРОВАНИЕ LUX-БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК *ESCHERICHIA COLI* И ГИБРИДНЫХ ПЛАЗМИД С ГЕНАМИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮЦИФЕРАЗ ПОД КОНТРОЛЕМ ИНДУЦИРУЕМЫХ ПРОМОТОРОВ

Баженов С.В.¹, Манухов В.И.^{1,2}, Коноплёва М.Н.¹

¹ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; ²Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Россия

sergei.v.bazhenov@phystech.edu

Lux-биосенсоры широко используются в работах по биотехнологии и генетической инженерии, при тестировании новых лекарственных препаратов и мониторинге окружающей среды (в качестве детекторов токсических агентов). Lux-биосенсор – это бактериальная клетка, содержащая гибридную плазмиду, в состав которой входят регуляторный участок (индуцируемый промотор или оператор) и ген(ы)-репортер(ы). Целью данной работы является создание lux-биосенсора с промотором оперона *iscRSUA E.coli* K12 MG1655. *iscRSUA* кодирует белки, участвующие в биосинтезе Fe-S кластеров. В качестве репортеров используются гены *luxCDABE Photobacterium luminescens*, кодирующие бактериальные люциферазу и редуктазу, а в качестве регуляторного элемента – индуцируемый промотор, изолированный из оперона *iscRSUA*. Белок IscR кодируется первым геном *iscR* оперона *iscRSUA* и является репрессором транскрипции с промотора оперона *iscRSUA*. Индукторами данного промотора являются перекись водорода и паракват.

В ходе работы были получены фрагмент ДНК, содержащий промотор оперона *iscRSUA*, и фрагмент ДНК, содержащий промотор, транскрипционно слитый с геном *iscR*, методом ПЦР-амплификации из генома *E.coli* K12 MG1655. ПЦР-продукты встраивали в вектор pTZ57R (Т-вектор). Далее проводился отбор гибридных плазмид по ориентации вставки. После чего регуляторный участок ДНК вырезался из Т-вектора по сайтам рестрикции EcoRI-BamHI и встраивался в беспромоторную плазмиду pDeW201. В результате была получена гибридная плазмида pA, в которой гены *luxCDABE P.luminescens* расположены под контролем индуцируемого промотора оперона *iscRSUA*. По этой же методике будет получена плазмида pB, содержащая lux-оперон под контролем промотора транскрипционно слитого с геном белка репрессора.

Были проведены измерения биолюминесценции клеток *E.coli* штаммов MC1061 и MG1655, трансформированных плазмидой pA, при различном содержании индуктора в среде. После получения гибридной плазмиды pB будут проведены измерения биолюминесценции клеток *E.coli*, трансформированных ею.

Результаты измерения биолюминесценции клеток, трансформированных плазмидой pA, показали, что в отсутствие белка IscR промотор открыт и не реагирует на присутствие в среде индукторов.

ПОИСК ГЕНА ANF У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ БЕСЧЕЛЮСТНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Байрамов А.В.¹, Ерошкин Ф.М.¹, Кучерявый А.В.², Зарайский А.Г.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ²ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

andrbayr@gmail.com

Важной особенностью позвоночных, в том числе человека, является наличие у них сложноструктурированного головного мозга, передний отдел которого - конечный мозг (теленцефалон) - не имеет аналогов у других животных.

Ранее в Лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза ИБХ РАН был открыт специфичный для позвоночных моногенный класс гомеобоксных генов *Anf*, играющий ключевую роль в развитии теленцефалона. Из всех позвоночных гены *Anf* не были обнаружены только у представителей самой древней группы – у бесчелюстных рыб (современные миноги и миксины), при том что конечный мозг у этих животных описан. Согласно литературным данным, ветвь, ведущая к бесчелюстным, отделилась от общего ствола позвоночных на самых ранних этапах их эволюции (около 650 млн лет назад) и обнаружение гена *Anf* у бесчелюстных важно, т.к. могло бы подтвердить гипотезу о том, что возникновение теленцефалона в эволюции было связано с появлением гомеобоксного гена *Anf*. На вероятное присутствие *Anf* у миног указывал факт обнаружения нами в геномной библиотеке тихоокеанской миноги (*Lethenteron camtschaticum*) коротких последовательностей, гомологичных фрагментам *Anf* других классов позвоночных. На основании этого, мы предприняли поиск гена *Anf* у тихоокеанской миноги методами обратной транскрипции-ПЦР и RACE. Особенности генома и транскриптома миноги (в частности, очень высокий процент GC-пар оснований) потребовали некоторой модификации стандартных лабораторных методик. Сбор материала (фиксированных эмбрионов и тотальной мРНК ранних стадий развития) был проведен нами в рамках экспедиции на полуостров Камчатка (б/с «Радуга» ИБМ ДВО РАН). В транскриптом зародышей миноги нами была обнаружена мРНК *Anf* и получен сиквенс ее нуклеотидной последовательности. Методом количественного ПЦР в реальном времени был проведен анализ профиля экспрессии гена *Anf* у тихоокеанской миноги на ранних стадиях развития (от стадии ранней бластулы до стадии 7 дней после вылупления) и было показано, что максимум экспрессии *Anf* наблюдается на стадии ранней нейрулы, что в целом соответствует данным об экспрессии генов класса *Anf* у представителей других классов позвоночных животных.

Таким образом, в настоящей работе нами впервые обнаружен ген класса *Anf* у представителя бесчелюстных позвоночных – животных, у предков которых впервые в эволюции появляется конечный мозг, впоследствии развившийся в структуры, обеспечивающие высшую нервную деятельность у животных и человека. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 15-04-04343).

РОЛЬ ФАКТОРА СБОРКИ ХРОМАТИНА CHD1 В РЕГУЛЯЦИИ СТРУКТУРЫ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ

Барановская И.Л.^{1,2}, Конев А.Ю.¹

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина; ²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

irina.baranovskaja.1992@gmail.com

Сборка хроматина представляет собой принципиально важный процесс необходимый для дупликации хроматина после репликации ДНК. Кроме того, удаление и включение гистонов происходит постоянно в течении клеточного цикла, в ходе таких процессов метаболизма ДНК, как, например, транскрипция, репарация или рекомбинация. В такие преобразования хроматина вовлечено множество белковых факторов, часть которых принадлежат семействам CHD и ISWI. Все АТФ-зависимые факторы сборки хроматина содержат хроматин-ремоделирующие

моторные белки (ISWI/SNF2H, CHD1 или ATRX) из SNF2-семейства АТФаз в качестве каталитических субъединиц.

CHD1 является первым АТФ – зависимым фактором сборки хроматина, для которого продемонстрировано участие в сборке хроматина *in vivo*. На данный момент считается, что белок является ключевым фактором в сборке хроматина, содержащего вариантный гистон H3.3.

Существует много работ, показывающих связь между нарушениями в функционировании белка CHD1 и развитием ряда тяжёлых заболеваний человека. Гены *Chd1* и *Chd2* человека, гомологичные *Chd1* дрозофилы являются онкогенами. Гомозиготные делеции по *Chd1* являются одними из самых распространенных мутаций у больных раком простаты. *Chd1* рассматривают и как ген, мутации которого могут способствовать развитию рака груди. Мутации в генах семейства CHD, в том числе, *Chd1* были найдены в при раке желудка и прямой кишки. Делеции CHD2 у человека связаны с задержками в умственном развитии, нарушениями интеллекта, эпилепсией и проблемами в поведении. Белок Chd1 регулирует различия между плюрипотентным и мультипотентным состоянием эмбриональных стволовых клеток и в настоящее время рассматривается как один из маркеров плюрипотентного состояния стволовых клеток. Также отмечена роль *CHD1* в подавлении латентной транскрипции вируса иммунодефицита человека 1-го типа. Таким образом, помимо фундаментальной значимости, исследование фактора CHD1 имеет и значительное практическое значение.

Целью данной работы является изучение роли белкового фактора CHD1 в сборке хроматина, а также его участие во включении вариантного гистона H3.3 в состав хроматина. Для достижения данных целей были получены мутантные особи *D.Melanogaster*, несущие мутацию гена *Chd1* и одного из двух генов, кодирующих вариантный гистон H3.3. Основными результатами данной работы можно считать обнаружение возникновения эффекта изменения X-хромосомы у самцов, несущих нуль-мутацию по гену *Chd1*. При этом замечено усиление данного эффекта в отсутствии одного из двух генов, кодирующий вариантный гистон H3.3.

ПЛАНАРИИ *SCHMIDTEA MEDITERRANEA* КАК МОДЕЛЬ ДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ СУКЦИНАТ ДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА

Бондаренко С.М.^{1,2}, Ермаков А.М.²

¹ФГБОУ ВПО Пущинский государственный естественно-научный институт; ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

semen.bko@ya.ru

Сукцинат дегидрогеназный комплекс митохондрий (СДГ) – это важный компонент биоэнергетической системы эукариот. Его уникальность в том, что он играет роль сразу в двух метаболических процессах. С одной стороны, СДГ участвует в цикле трикарбоновых кислот, катализируя обратимое окисление сукцината до фумарата. С другой стороны, СДГ участвует в функционировании комплекса II дыхательной цепи переноса электронов митохондрий. В состав SDH входят 4 субъединицы (A, B, C, D), в процессе его образования участвуют еще 4 субъединицы - факторы сборки СДГ. Показано, что дефекты субъединиц СДГ могут быть причиной появления злокачественных новообразований и/или серьезных метаболических расстройств организма.

Плоский червь *Schmidtea mediterranea* это классический объект для изучения процессов морфогенеза и регенерации. Он является удобной биологической моделью для исследования роли определенных белков в тех или иных процессах с помощью *in vivo* РНК-интерференции. Цель данной работы – исследование возможности моделирования патологических метаболических состояний организма планарий *Schmidtea mediterranea* с помощью РНК интерференции экспрессии субъединиц СДГ.

В геномной базе планарий (SmedGD) нами выявлены гены субъединиц СДГ, оказалось, что они крайне консервативны. После серии инъекций дцРНК в организм планарий оценивали влияние дефицитных состояний СДГ на регенерацию (морфометрия), подвижность планарий, ферментативную активность СДГ, интенсивность образования активных форм кислорода в клетках, активность про- и антиоксидантных систем клеток. Исследование показало, что эффекты элиминации мРНК субъединиц СДГ проявляются по-разному в зависимости от того, какая субъединица SDH не экспрессируется. Нами не было выявлено изменений в динамике

регенерации головной части планарий при дефиците субъединиц СДГ. При этом было обнаружено, что у подопытных животных всех групп была снижена активность СДГ, клетки находились в состоянии окислительного стресса и подвижность была выше, чем в контроле. Таким образом, планарии могут служить модельным объектом для исследования механизмов развития патологий, связанных с дефектами метаболизма.

Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-04-31518 мол-а, № 14-04-01517-а и 15-04-05948-а.

РЕДАКТИРОВАНИЕ ПРОЛИЛ-тРНК СИНТЕТАЗОЙ БАКТЕРИАЛЬНОГО ТИПА ПРОДУКТОВ ОШИБОЧНОГО УЗНАВАНИЯ АЛАНИНА

**Бояршин К.С., Присс А.Е., Раевский А.В., Крикливый И.А., Ильченко Н.Н.,
Дубей И.Я., Яремчук А.Д., Тукало М.А.**

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

kboyarshin@mail.ru

Многие аминоксил-тРНК синтетазы (АРСазы) используют для обеспечения своей аминокислотной специфичности механизмы редактирования, то есть специфического гидролиза ошибочно синтезированных продуктов. Гидролиз промежуточных продуктов, аминоксил-аденилатов, называют претрансферным редактированием, гидролиз аминоксил-тРНК – посттрансферным редактированием. Претрансферное редактирование осуществляется непосредственно в аминоксиллирующем активном центре фермента, а посттрансферное – в активном центре особого редактирующего домена, куда аминокислотный остаток попадает при изгибе одноцепочечного 3'-конца тРНК.

Пролил-тРНК синтетаза *Enterococcus faecalis* (ПроРСЕf) редактирует продукты ошибочного узнавания аланина по претрансферному и посттрансферному пути.

Как было показано в настоящей работе, в отсутствие тРНК^{Pro} ПроРСЕf способна осуществлять претрансферное редактирование как путём катализа расщепления аланил-аденилата, так и путём его высвобождения в раствор.

В присутствии тРНК^{Pro} гидролиз аланил-аденилата существенно ускоряется. Таким образом, впервые среди АРСаз 2-го класса, для ПроРСЕf показано тРНК-зависимое претрансферное редактирование. Как было установлено путём ферментативной модификации тРНК^{Pro}, ключевую роль в этом процессе играет 2'-гидроксильная группа 3'-концевого аденина А76.

Путём сайт-направленного мутагенеза редактирующего домена ПроРС *Enterococcus faecalis* в сочетании с компьютерным моделированием комплекса ПроРС с аланил-тРНК^{Pro}, были выявлены ключевые аминокислотные остатки редактирующего активного центра. Тест на деацилирование гибридной аланил-тРНК показал, что наибольшее значение имеет аминокислотный остаток Лиз279, обеспечивающий согласно модели связывание и позиционирование 3'-конца аланил-тРНК. Важную роль играют также Иле278 и Иле333, координирующие воду в редактирующем активном центре.

При деацилировании аланил-тРНК^{Pro} одним из ключевых структурных элементов выступает 2'-гидроксильная группа 3'-концевого аденина А76 тРНК. При её замене на протон в модельной системе скорость деацилирования падает в ~600 раз.

Согласно построенной квантово-механической модели реакции деацилирования аланил-тРНК^{Pro}, 2'-ОН А76 образует водородную связь с карбонильной группой остатка аланина, что ведёт к существенному снижению энергии активации. Гидролизуемый аминокислотный остаток подвергается нуклеофильной атаке молекулы воды, скоординированной Иле333. Перенос протона с атакующей воды на 3'-О осуществляется через молекулу воды, координируемую Иле278.

ПОЛУЧЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНО МЕЧЕНЫХ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ПОЛИРИБОСОМ

Брилькова М.Е., Широков В.А.

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

brilkova@vega.protres.ru

В литературе описано несколько подходов к флуоресцентному мечению рибосом. Эти подходы можно разделить на мечение индивидуальных рибосомных белков с последующим их встраиванием в рибосому, мечение определенных участков рибосомной РНК путем отжига на них меченых олигонуклеотидов, химическое присоединение флуоресцентной метки к реакционным группам на поверхности рибосомы. Наша задача не требовала сайт-направленного введения флуоресцентной метки в рибосому, поэтому мы использовали путь химической модификации аминокислот рибосомных белков с помощью сукцинимидных эфиров двух флуоресцентных красителей Alexa 488 и Alexa 647. Рибосомы для модификации флуоресцентными метками были получены путем выделения из экстракта зародышей пшеницы. Оптимизированный по соотношению трансляционной активности и удельной флуоресценции уровень модификации при использовании Alexa 488 составлял 10-12 молекул флуоресцентного красителя на одну рибосому, при модификации Alexa 647 одна рибосома содержала примерно 6-7 молекул красителя. Следует отметить, что преимущественно модификации подвергалась малая 40S субчастица рибосомы. В реконструированной пшеничной бесклеточной системе трансляции рибосомы меченые Alexa 488 обладали трансляционной активностью, сопоставимой с активностью исходных немеченых рибосом. Модификация красителем Alexa 647 привела к незначительному снижению трансляционной активности рибосом. Такой результат можно объяснить тем, что молекула красителя Alexa 647 имеет больший размер, что может вызывать большую интерференцию с функциональными центрами рибосомы. Седиментационный анализ в сахарозном градиенте показал, что меченые рибосомы образуют в процессе трансляции полисомы размером от трех до шести рибосом. Протестирована возможность визуализации индивидуальных рибосом в меченых полисомах с помощью флуоресцентной микроскопии высокого разрешения.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 13-04-40213-N и 15-04-99702.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЭКСПАНСИНА И РАМНОГАЛАКТУРОНАНЛИАЗЫ В ВИРУЛЕНТНОСТИ ФИТОПАТОГЕНА *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*

Бункевич Е.Ю.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Dark_lunx@inbox.ru

Pectobacterium atrosepticum – грамотрицательные бактерии, вызывающие различные заболевания у растений. Попадание данного фитопатогена в стебли растений картофеля, как правило, приводит к развитию заболевания «черная ножка», а при инфицировании клубней развиваются мягкие гнили. Данные бактерии обладают широким набором факторов вирулентности. *P. atrosepticum* синтезируют и секретируют большое количество гидролитических ферментов, способных разрушать клеточную стенку растений. К таким ферментам можно отнести и секретируемые посредством системы секреции второго типа продукты генов ECA2220 и ghiE – экспансин и рамногалактуронанлиазу соответственно. Предполагается, что экспансин может участвовать в нарушении связей между матрицей гемицеллюлозы и целлюлозы микрофибрилл, а рамногалактуронанлиаза в расщеплении полисахарида рамногалактуронана до простых сахаров, тем самым улучшая усвоение питательных веществ за счет размягчения тканей растения.

Целью данного исследования является выяснение роли экспансина и рамногалактуронанлиазы в вирулентности фитопатогена *P. atrosepticum*. Для клонирования генов ECA2220 и ghiE из *P. atrosepticum* были сконструированы специфические праймеры к концам фрагментов данных генов. Используя в качестве матрицы ДНК *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043, удалось получить ПЦР-продукты фрагментов генов ECA2220 и ghiE с размерами 704 и 1745 п.н. соответственно. Оба ПЦР-продукта были клонированы по сайтам

NdeI-BamHI в вектор pUC18 для удобства дальнейших манипуляций. В дальнейшем планируется подробно изучить роль этих ферментов при поражении растений бактериями *P. atrosepticum*.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МАЛЫМИ НЕКОДИРУЮЩИМИ 6S-1 И 6S-2 РНК *BACILLUS SUBTILIS*

**Буренина О.Ю.¹, Елкина Д.А.¹, Толкен К.², Логачёва М.Д.¹, Хартманн Р.К.²,
Кубарева Е.А.¹**

¹ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, химический факультет, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия; ²Институт фармацевтической химии, Марбургский университет им. Филиппа, Марбург, Германия

alunit@inbox.ru

Прокариотические 6S РНК – это малые регуляторные РНК, обнаруженные более чем в 1600 видах бактерий. Вторичная структура их молекул имитирует промотор ДНК в открытом комплексе с РНК-полимеразой (РНКП), что позволяет 6S РНК связываться в активном центре холофермента. Глобальное ингибирование транскрипции, вызванное экспрессией 6S РНК, как правило, приходится на стационарную фазу роста клеток. При этом холоферменты РНКП, содержащие минорные сигма-факторы, не взаимодействуют с 6S РНК. Большинство бактерий содержит одну 6S РНК, но в некоторых видах, в том числе *Bacillus subtilis*, обнаружена дополнительная 6S РНК (6S-2), которая экспрессируется в логарифмической фазе роста клеток. Таким образом, часть холофермента РНКП, содержащего основной сигма-фактор, связываясь с 6S-2 РНК, теряет активность и не способна к транскрипции. Причины, обуславливающие необходимость экспрессии 6S-2 РНК в *B. subtilis* и механизмы, контролируемые равновесие между активной РНКП и её комплексами с 6S-1 и 6S-2 РНК на сегодняшний день неизвестны.

Целью данной работы являлось установление функциональной роли обеих 6S РНК *B. subtilis* и идентификация генов, экспрессия которых зависит от этих РНК. Для этого были получены мутантные клеточные линии *B. subtilis* с делециями генов 6S-1 и/или 6S-2 РНК. Для оценки влияния каждой 6S РНК на транскрипцию выделение общей РНК проводили в ранней стационарной фазе роста клеток, когда экспрессируются обе 6S РНК. После удаления рРНК и получения библиотек кДНК проводили секвенирование и последующий дифференциальный транскриптомный анализ. Уровень транскрипции более 170 генов существенно возрастал в отсутствие обеих 6S РНК, однако многие опероны ингибировались или активировались только 6S-1 или 6S-2 РНК. Отсутствие 6S РНК также оказывало влияние на синтез некоторых некодирующих РНК, в том числе РНКазы II, малой цитоплазматической 4.5S РНК и рибозима *glmS*. Влияние обеих 6S РНК на экспрессию генов было также продемонстрировано с помощью сравнительного протеомного анализа нокаутных штаммов. Многие идентифицированные методом масс-спектрометрии белки, экспрессия которых возрастала в отсутствие 6S-1 и/или 6S-2 РНК, являются факторами стресса и участвуют в различных метаболических процессах. Кроме того, экспрессия ряда белков регулируется основным фактором катаболитной репрессии СсрА. Таким образом, впервые *in vivo* была доказана роль обеих 6S РНК как регуляторов экспрессии генов в *B. subtilis*.

Работа проводилась в рамках совместной программы ННИО-РФФИ «Международные исследовательские группы с участием молодых ученых» (гранты IRTG 1384, 14-04-91336).

ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ СЕМЕЙСТВА NF1 В ХРОМАТИНЕ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА ТРИПТОФАНДИОКСИГЕНАЗЫ КРЫСЫ НА МОДЕЛИ АКТИВНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ

Вихнина М.В., Бобров Е.А., Романовская Е.В., Чихиржина Г.И.
ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

vikhnina@gmail.com

Показано, что транскрипционные факторы семейства NF1 (nuclear factor 1) участвуют в регуляции экспрессии более 100 клеточных и вирусных генов. Среди механизмов, посредством которых белки семейства NF1 осуществляют контроль транскрипции, особо следует выделить их возможное участие в формировании и поддержании ремоделированной структуры хроматина регуляторных областей индуцибельных генов. Особенности формирования подобной структуры хроматина гормон-зависимых генов активно изучаются на модельных системах *in vitro*, однако получаемые экспериментальные данные противоречивы и не дают однозначного ответа по поводу участия транскрипционных факторов NF1 в этом процессе.

Цель нашего исследования заключается в выявлении тканеспецифического характера распределения *in vivo* белков семейства NF1 в хроматине промоторной области глюкокортикоид-зависимого гена триптофандиоксигеназы крысы (*tdo*). Для этого гена ранее было показано наличие в промоторной области двух сайтов гиперчувствительности к ДНКазе I, что указывает на ремоделированное состояние хроматина.

С помощью биоинформатического анализа последовательности регуляторной области гена *tdo* было выявлено несколько сайтов взаимодействия с белками семейства NF1. С помощью методов ретардации в геле и иммуноблоттинга продемонстрировано связывание белков, принадлежащих к семейству NF1, с участками регуляторной области гена *tdo*. Все эти данные свидетельствуют о том, что структура хроматина промоторной области гена *tdo* компетентна к транскрипции и в формировании подобной структуры могут быть задействованы факторы семейства NF1.

Дальнейшие исследования проводятся с использованием метода ChIP-qPCR на модели активной (хроматин печени крыс), репрессированной (хроматин почек крыс) транскрипции, а также на модели компетенции гена к транскрипции (хроматин клеток гепатомы линии НТС). На данный момент методом ПЦР в реальном времени на модели активной транскрипции в одной из областей гиперчувствительности к ДНКазе I (-470/-420) для белков семейства NF1 не выявлено существенного обогащения. В настоящее время проводится анализ второго сайта гиперчувствительности к ДНКазе I, локализованном в промоторной области гена *tdo* от -250 п.о. до -130 п.о.

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЕ СОНИ-ПОЛЧКА (*GLIS GLIS*) ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ

**Газизова Г.Р.¹, Тяпкина О.В.², Логачева М.Д.³, Нуруллин Л.Ф.², Вихлянцев И.М.⁴,
А. Ишихара⁵, Н. Ишиока⁶, Гусев О.А.^{1,6}**

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань;

³ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; ⁴ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия; ⁵Киотский университет, Киото, Япония; ⁶Японское агентство аэрокосмических исследований (JAXA), Токио, Япония

grgazizova@gmail.com

Спячка, или гибернация, – уникальный способ гипометаболического переживания рядом млекопитающих неблагоприятных условий. Во время спячки у животных происходит замедление физиологических процессов, снижение уровня метаболизма и температуры тела, а также достаточно длительное ограничение подвижности (до 6-8 месяцев). У человека и большинства млекопитающих вынужденная гипокинезия (ограничение подвижности) приводит

к атрофии скелетных мышц. Однако животные, впадающие в зимнюю спячку, не страдают от деградации мышечной системы, что, возможно, связано с выработкой у них особых защитных механизмов в процессе эволюции. Для детального изучения молекулярных систем, лежащих в основе такой защитной адаптации, было проведено полногеномное исследование экспрессии мРНК на платформе Illumina HiSeq в камбаловидной мышце (m. Soleus) сови-полчка (*Glis glis*). Были использованы две группы животных: 1) виварийный контроль и 2) гипокинезия (содержание в специальных пеналах 14 суток). Транскриптом был собран *de novo* и далее был проведен анализ дифференциальной экспрессии транскриптов, используя CLC Genomics Workbench 7.5.1.

В транскриптом исследованных животных было определено 48 010 последовательностей. Из них 31 566 транскриптов показали значение экспрессии больше единицы. Во время гипокинезии в общей сложности 296 транскриптов поменяли свою экспрессию больше, чем в три раза, из которых 89 понизили экспрессию, а 207 повысили экспрессию.

У подопытных сови были отмечены особенности экспрессии мышечных белков. Особый интерес представляет отсутствие изменений реакции белков титина и тропонина. При этом транскрипты, кодирующие небулин и миоглобин, незначительно понизили экспрессию (~ в 1,5–2 раза). В то же время транскрипты, кодирующие актин (*ACTA1*), при гипокинезии повысили экспрессию в 15 раз, а гены, кодирующие белки-миозины – в 3-9 раз.

На данном этапе анализа транскриптома можно сделать вывод, что у сови-полчков в условиях гипокинезии, не развиваются атрофические процессы в камбаловидной мышце, или возникают на более длительных сроках. Морфологические данные подтверждают наше заключение. Значительное увеличение уровня экспрессии актина и миозина, возможно, является важным звеном в механизме предотвращения атрофии скелетных мышц у этих животных.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки К(П)ФУ в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров и при поддержке гранта ЯФ_а №14-04-92116.

ОЧИСТКА ПРОТЕИНАЗЫ HTRA ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* 168 ИЗ КЛЕТОК РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* BL21 РЕТ-HTRA

Гайнутдинова З.Р., Чернова Л.С., Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р.

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

gzr1994@mail.ru

Протеиназа HtrA *B.subtilis* принадлежит к семейству сериновых протеаз HtrA – высокоспецифичных ферментов, протеолитическая активность которых модулируется температурой. Ее основной функцией является качественный белковый контроль, а так же удаление денатурированных и нефолдированных белков. От других протеаз белкового качественного контроля, протеиназы HtrA выгодно выделяются способностью к шапероновой активности. HtrA способны вызывать или модулировать различные сигнальные пути, расщепляя или изолируя регуляторные белки. Во многих клетках белки HtrA вовлечены в такие важные процессы, как пролиферация, миграция клеток и их гибель.

Для гиперпродукции рекомбинантного белка HtrA, несущего His6-tag на N-конце белка, ген *htrA* клонировали в экспрессионный вектор pET15b. Фрагмент ДНК, несущий ген *htrA*, получали с помощью ПЦР с геномной ДНК *B.subtilis* 168. Полученный продукт амплификации и вектор pET15b рестрицировали по сайтам BamHI и лигировали, после чего трансформировали лигазной смесью клетки *E.coli*. Рекомбинантные клетки высевали на селективной среде с ампициллином, а так же проверяли наличие вставки методом ПЦР. Таким образом, была получена плазида pET15b-HtrA, обеспечивающая гиперпродукцию рекомбинантного белка HtrA-His6 в клетках *E.coli*.

Очистку рекомбинантного белка HtrA-His6 с His6-tag меткой проводили на Ni-NTA сефарозе. Клеточный экстракт культуры рекомбинантного штамма *E.coli* BL21 pET15b-HtrA наносили на колонку с Ni-NTA сефарозой размером 1x2см и элюировали буфером, содержащим имидазол в концентрации 250мМ. Фракции элюции с максимальным содержанием

белка диализовали и анализировали с помощью SDS-PAGE электрофореза. Таким образом, было получено 10 мг белка в электрофоретически гомогенном состоянии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_а.

ФАКТОР ЯДЕРНОГО ЭКСПОРТА МРНК NXF1 В СЕМЕННИКАХ *D. MELANOGASTER* ИМЕЕТ СПЕЦИФИЧНУЮ ИЗОФОРМУ

**Гинанова В.Р., Якимова А.О., Кливер С.Ф., Ацапкина А.А., Голубкова Е.В.,
Мамон Л.А.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

v.ginanova@gmail.com

Большинство клеточных мРНК эукариот экспортируются из ядра в цитоплазму факторами NXF1/NXT1 (TAP/p15 у человека). Экспорт происходит неспецифически, через взаимодействия белков экспорта и комплекса TREX (transcription-coupled export). Эта универсальная функция NXF1 (nuclear export factor 1) необходима всем клеткам с активной транскрипцией. У *D. melanogaster* нашей группой были описаны продукты гена *Dm nxf1* (второе название гена – *sbr*), экспрессия которых характерна для определённых органов/тканей или этапа развития. Функции этих продуктов неизвестны, а структура их не подразумевает выполнение универсальной функции экспорта мРНК.

Чтобы проверить, кодирует ли один из семенниково-специфичных транскриптов белок, мы получили антитела к С-терминальной части NXF1 и провели Вестерн-блот анализ образцов из разных органов (головы, семенники, яичники). Среди тотальных белков в семенниках присутствовал как универсальный белок NXF1 (74 кДа), так и короткая его изоформа (60 кДа). Причём у самцов, гетерозиготных по мутации *sbr*¹², имеющей делеционную природу и удаляющей 10 а.к. в белке NXF1, короткая белковая форма представлена на ПААГ-электрофорезе двумя полосками – это свидетельствует о специфичности связывания антител.

Фенотипическое проявление гетерозиготного носительства *sbr*¹² – доминантная мужская стерильность вследствие неподвижности сперматозоидов. Делеция *sbr*¹² затрагивает домен NTF2-like, необходимый для связывания NXF1 с кофактором NXT1 (p15). Ядерный экспорт мРНК осуществляется исключительно димерами NXF1/NXT1. Моделирование вторичной структуры нормального и мутантного белков NXF1 выявляет нарушение укладки белка в районе делеции.

Каковы функции короткого белка NXF1, специфичного для семенников, и каков механизм возникновения доминантной стерильности в случае самцов *sbr*¹²/+ помогут определить исследования по поиску партнёров и мишеней *Dm NXF1* в семенниках.

РЕСТРИКЦИОННЫЕ КАРТЫ ДЛЯ ВИДОВ ТЛЕЙ РОДОВ *MEGOURA* И *SCHIZAPHIS*

Головенчик В.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

vika.golovenchik@mail.ru

Тли относятся к группе насекомых-фитофагов, которые являются важнейшим фактором, влияющим на рост и продуктивность ценных культур растений. Известно, что виды тлей различаются как степенью вредоносности, так и активностью трансмиссии вирусов, что предполагает проведения различных защитных мероприятий. Правильная идентификация насекомых данной группы является важнейшей задачей современной энтомологии. Быстрое и точное морфологическое определение видов тлей в ряде случаев затруднено из-за морфологического сходства и наличия видов-двойников. Для решения данной проблемы нами предложены ПЦР-ПДРФ таблицы на основе последовательности гена EF1a для идентификации видов тлей рода *Megoura* и *Schizaphis*. Одни представители данных родов поражают такие ценные культивируемые растения как пшеница, рожь и кукуруза, другие являются безвредными для сельского хозяйства.

В работе были использованы последовательности EF1a 4 видов тлей европейской фауны, полученные из международной базы данных GenBank NCBI. Был проанализирован фрагмент гена с 259 по 1360 нуклеотид. Поиск сайтов рестрикции и построение графических рестрикционных карт был проведен в программе Codon Code Aligner для ферментов, производимых компаниями Fermental Internati.

В ходе работы было исследовано 117 эндонуклеаз, которые имели не более 2 сайтов узнавания в изучаемых последовательностях тлей данных родов. 102 из изученных рестриктаз были исключены из анализа т.к. либо имели сайты узнавания в идентичных позициях гена, либо располагались близко к интрон-экзонной границе. В итоге были отобраны 15 рестриктаз. Для выбранных ферментов была создана общая определительная ПДРФ-таблица и построены рестрикционные карты.

В ходе сравнительного анализа рестрикционных карт было показано, что применение одной из рестриктаз BclI, DpnI, DraI, HpyF3I, MboI или XapI позволяет идентифицировать вредного для сельского хозяйства *Schizaphis graminum* (Rondani, (1847), 1852), питающегося на ржи, пшенице и кукурузе от неопасного *S. scirpi* Passerini, 1874. Вид *Megoura viciae* Buckton, 1876, питающийся на горохе, можно отличить от безвредного вида *M. lespedezae* (Essig and Kuwana, 1918), используя одну из 9 предлагаемых рестриктаз BsuRI, EcoRI, HhaI, Hin6I, HindIII, KphI, Mph 1103I, SspI, TaqI, каждая из которых имеет сайты узнавания в последовательностях гена только одного вида.

Таким образом, было показано, что на основе последовательности гена EF1a для всех исследуемых родов удалось составить ПДРФ-ключи, которые позволяют уверенно дифференцировать виды тлей родов *Megoura* и *Schizaphis*.

ЦЕПЬ СПЕЦИФИЧНАЯ ОТ-КПЦР ГЕНОВ КВОРУМ СЕНСИНГА *PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. TOMATO DC3000*

Горбунова А.С.¹, Шлыкова Л.В.², Гоголева Н.Е.², Гоголев Ю.В.²

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

ankapulimetchitsa@yandex.ru

Кворум сенсинг является одной из самых распространенных регуляторных систем у бактерий. Он контролирует различные физиологические процессы, включая подвижность, конъюгацию, споруляцию, синтез факторов вирулентности, образование антибиотиков и биопленок.

У фитопатогенной бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pto*) система кворума играет ключевую роль в регуляции продукции ферментов, разрушающих ткани растений. Гены системы кворума *Pto*, *psyI* и *psyR*, расположены на комплементарных цепях и перекрываются 3'-концами. Подобная топология является довольно характерной для пар, когда один из генов-партнеров кодирует регулятор противоположно ориентированного партнера, а регуляция осуществляется на транскрипционном или пост-транскрипционном уровне. Нами было обнаружено, что после открытых рамок считывания (ОРС) обоих генов отсутствуют канонические терминаторные структуры. Таким образом, в результате пролонгированной транскрипции либо обоих, либо одного из этих генов могут образовываться мРНК, содержащие на 3'-конце участки некодирующей РНК, комплементарные (антисмысловые) к транскриптам противоположно ориентированного гена.

Для проверки рабочей гипотезы о возможности образования антисмысловых последовательностей к исследуемым генам мы использовали метод цепь-специфичной обратной транскрипции, совмещенный с количественным ПЦР-анализом. С помощью этого метода оценивали соотношение прямых и антисмысловых последовательностей *psyI* и *psyR* в клетках *Pto* на разных стадиях роста культуры. В ходе роста культуры относительный уровень экспрессии исследуемых генов увеличивался, при этом уровень экспрессии *psyI* на всех стадиях роста был значительно выше *psyR*. Относительное содержание антисмысловых последовательностей *psyI* и *psyR* значительно увеличивалось на поздней стационарной фазе роста. Более того, количество антисмысловых последовательностей к гену *psyR* в среднем на порядок превышало количество прямых последовательностей. Исходя из полученных

результатов, можно сделать вывод о вероятном участии некодирующей антисмысловой РНК в регуляции генов системы кворум сенсинга *Pto*.

ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНОМНЫХ БИБЛИОТЕК АКТИВНЫХ ПРОМОТОРОВ

**Дидыч Д.А., Медведева Н.И., Копанцев Е.П., Акопов С.Б., Николаев Л.Г.,
Свердлов Е.Д.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

dmitry_D@inbox.ru

В работе предложена стратегия получения высокообогащенных библиотек геномных промоторов, активных в желаемых линиях клеток. Принцип отбора активных промоторов основан на их свойстве инициировать транскрипцию репортерного гена. Нами был сконструирован самоинактивирующийся лентивирусный вектор, содержащий беспромоторный репортерный ген зеленого флуоресцентного белка, а также ген устойчивости к пуромицину под контролем промотора *mP_{gk}-1*. Перед репортерным геном в положение «промотора» были клонированы обработанные ультразвуком фрагменты геномной ДНК человека с длинами 650-950 п.н. Из полученной клонотеки был выделен пул лентивирусных плазмид, содержащих 400 тысяч уникальных фрагментов генома, которым трансфицировали клетки пакующей линии для получения лентивирусных частиц. Вирусными частицами проводили трансдукцию клеток линии А-431. После трансдукции и последующей селекции клеток на пуромицине был проведен отбор GFP-позитивных клеток с применением FACS-сортировщика. С помощью ПЦР из отобранных клеток были выделены фрагменты ДНК, которые повторно клонировали в лентивирусный вектор для проведения второго раунда селекции по описанной выше схеме. После второго раунда селекции была получена библиотека фрагментов, обогащенная промоторами. Анализ отдельных фрагментов библиотеки показал, что 80 процентов из них проявляют промоторную активность в клетках линии А-431. Были выявлены фрагменты, проявляющие двунаправленную промоторную активность. С помощью массивного параллельного секвенирования фрагментов библиотеки были определены нуклеотидные последовательности их концов. Анализ распределения отобранных промоторов в геноме человека подтвердил их преимущественную локализацию в функциональных областях. Предложенный подход в дальнейшем планируется применять в качестве первого этапа при создании библиотек промоторов с разной клеточной специфичностью, например, при получении библиотек раковоспецифических промоторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проектов № 14-04-31976 мол_а и № 13-04-01765а.

ВЛИЯНИЕ ОГРАНИЧИТЕЛЬНОЙ ДИЕТЫ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* СО СВЕРХАКТИВАЦИЕЙ ГЕНОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ

Добровольская Е.В.¹, Плюснина Е.Н.^{1,2}, Соловьев И.А.², Москалев А.А.^{1,2,3}

¹ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ²ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет, Сыктывкар; ³ФГАОУ ВПО Московский физико-технологический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

dobrovolskaya.evgenia@gmail.com

С возрастом наблюдается усугубление нарушений ритмики физиологической активности, апериодизма циклов сна и бодрствования. Процесс старения связан с изменениями уровня экспрессии различных генов. Не являются исключением и гены, формирующие систему «биологических часов» организма. Молекулярные часы можно обнаружить в каждой клетке периферических тканей многоклеточных организмов. Основной экологический фактор, с которым связывается ритмика биологических процессов – свет, с суточными и годовыми колебаниями его интенсивности связаны такие явления как сон, двигательная активность,

покой, рост, размножение, половое поведение, линька, миграции. Большинство генов циркадных ритмов человека являются эволюционно консервативными и имеют ортологи у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Установлено, что у взрослых особей дрозофил наблюдается снижение экспрессии гена светочувствительного белка Cryptochrome, в то время как его сверхактивация у старых особей приводит к замедлению скорости старения (Rakshit, Jadwiga, 2013). С другой стороны, дрозофилы с мутациями в генах циркадных ритмов характеризуются сниженной продолжительностью жизни (Kondratov, Antoch, 2007). Сигнальный путь киназы TOR в присутствии избытка питательных веществ активизирует процессы роста и деления клеток, но подавляет процессы стрессоустойчивости и ускоряет старение. Одна из ролей гена-ортолога *sus* у млекопитающих заключается в ингибировании пути mTOR. Целью данной работы было исследовать влияние ограничения питания на продолжительность жизни особей *Drosophila melanogaster* со сверхактивацией генов циркадных ритмов периферических тканях (*Period*, *Timeless*, *Doubletime*, *Clock*, *Cycle*, *Cryptochrome*). Для этого производили кондиционную (мифепристон-индуцибельную) активацию экспрессии исследуемых генов с помощью UAS/GAL4 системы в мышечной системе мух. Далее дрозофил помещали на питательную среду с разным уровнем калорийности, после чего оценивали показатели продолжительности жизни. Результаты проведенного исследования могут косвенно свидетельствовать о взаимосвязи генов регуляции циркадных ритмов и таких компонентов старения, как инсулиновый и TOR сигналинги. Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации №МД-1090.2014.4 и грантом РФФИ №14-04-01596.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ NRPL-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM*

Доменикан А.В., Кузьмич С.В., Николайчик Е.А.

СНИЛ молекулярной биотехнологии, Белорусский государственный университет,
Минск, Беларусь

damienikan@gmail.com

Pectobacterium carotovorum – бактериальный фитопатоген, использующий различные альтернативные сигма-факторы и регуляторные белки, действующих на функциональную активность множества генов, так или иначе участвующих в патогенезе. Среди альтернативных сигма-факторов наибольший интерес представляют HrpL, контролирующий гены системы секреции третьего типа (ССТТ) и эффекторный белок DspE; FliA, контролирующий путь сборки жутиков; RpoN, ответственный за экспрессию генов утилизации азота, при его недостатке в среде. К числу транскрипционных факторов, контролирующих крупные регулоны с большим количеством генов вирулентности можно отнести KdgR, FNR, CRP и др. Для выявления сайтов связывания данных белков в секвенированном геноме *P. carotovorum* 3-2 был проведен поиск и аннотация специфических последовательностей ДНК, при помощи программы SigoID (<https://github.com/nikolaichik/SigoID>). Такой скрининг выявил множество промоторных областей, в том числе и семь HrpL-зависимых промоторов в пределах *hrp*-кластера генов, присутствие которых ожидалось, а также дополнительный промотор за пределами *hrp*-кластера. Поскольку последний промотор оказался расположен слишком далеко (360 н.п.) от ближайшей рамки считывания, с использованием программы TransTerm HP 2.08 было проверено присутствие возможных транскрипционных терминаторов после этого промотора. Один потенциальный терминатор оказался расположен на расстоянии 105 н.п. от промотора, а второй, более стабильный, – на расстоянии 1118 н.п. Это дает основания предположить, что данный участок может кодировать малую регуляторную РНК (sRNA). С использованием программы IntaRNA был проведен поиск возможных мишеней для этой sRNA в геноме *P. carotovorum* 3-2. Вероятными мишенями являются следующие гены, так или иначе задействованные в патогенезе: отвечающие за подвижность *flhB*, *fliJ*, *fliA*, *motA* и гены ССТТ (*hrpA*, *hrcC*). В настоящий момент HrpL-зависимая транскрипция с исследуемого промотора подтверждена экспериментально с помощью кПЦР. Планируется исследование роли находящихся под контролем нового HrpL-зависимого промотора генов.

ГЕН ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 6 В ПОПУЛЯЦИЯХ РУССКИХ, БАШКИР И НАГАЙБАКОВ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ – ТОЧКОВЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ 745С>Т

Евдокимов А.В., Бурмистрова А.Л., Сташкевич Д.С.

ФГБОУ ВПО Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

avdax@yandex.ru

Толл-подобные рецепторы (toll-like receptors, TLRs) относятся к семейству клеточных рецепторов, распознающих патогенные микроорганизмы и запускающие механизмы микробной элиминации. В различных исследованиях было обнаружено большое количество точковых полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms, SNPs), расположенных в генах TLRs. При этом отмечались сильные различия по частоте распределения отдельных SNPs в разных человеческих популяциях. Одним из таких SNPs является 745С>Т в гене TLR6: частота встречаемости аллеля 745*Т в европеоидных популяциях составляет, как правило, около 50%, в то время как в монголоидных популяциях преобладает аллель 745*С.

Целью исследования было оценить частоту встречаемости аллелей и генотипов по точковому полиморфизму 745С>Т гена толл-подобного рецептора 6 (TLR6) в популяциях русских, нагайбаков и башкир Челябинской области

Материалы и методы. Исследовались три группы: русские (100 человек), нагайбаки (100 человек) и башкиры (108 человек). Геномная ДНК была выделена из венозной крови реагентами Ахуген (Qiagen, Германия). Определение SNP 745С>Т гена TLR6 проведено набором реагентов НПФ «Литех» (Москва). Детекция результатов осуществлялась электрофоретически. Для определения различий в частотах распределения аллелей и генотипов между популяциями были рассчитаны отклонения Фримана–Тьюки. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,050$.

Результаты. Частота встречаемости аллеля 745*Т достоверно выше в популяции русских (40,0%, $p < 0,001$) и ниже – в популяции башкир (18,1%, $p < 0,001$). Аллель 745*С был более частым в популяции башкир (81,9%, $p = 0,001$) и реже всего встречался в популяции русских (60,0%, $p = 0,001$). Доля гомозигот по аллелю 745*Т достоверно ниже в популяции башкир (4,6%, $p = 0,048$). Гомозиготы по аллелю 745*С наиболее часто наблюдались в популяции башкир (68,5%, $p < 0,001$) и реже всего – в популяции русских (32,0%, $p < 0,001$). Гетерозиготный генотип был наиболее частым в популяции русских (56,0%, $p = 0,003$) и реже всего встречался среди башкир (26,9%, $p < 0,001$). Частоты встречаемости указанных аллелей и генотипов в популяции нагайбаков имеют промежуточные значения по сравнению с данными для популяций русских и башкир, но статистически значимо от них не отличаются.

Вывод. Установлено, что между популяциями русских, башкир и нагайбаков Челябинской области есть различия в частотах встречаемости аллелей и генотипов по SNP 745С>Т гена TLR6: указанные частоты в популяции русских соответствуют аналогичным показателям в европеоидных популяциях, а популяция башкир по данному параметру близка к монголоидным популяциям; средние значения для частот в популяции нагайбаков связаны, по-видимому, с генетической разнородностью их предков.

ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНИНА GroEL/GroES И ПРОТЕАЗЫ Lon НА АКТИВНОСТЬ LuxR1 И LuxR2 - РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ Lux-ОПЕРОНА ALIIVIBRIO LOGEI

Екимов Л.В.¹, Коноплева М.Н.¹, Хрульнова С.А.², Манухов И.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; ²Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Россия

ekimov@phystech.edu

Lux-оперон психрофильных бактерий *Aliivibrio logei* регулируется системой quorum sensing (QS), которая состоит из luxR и luxI генов. LuxI катализирует синтез аутоиндуктора I типа (АИ). Имеется две копии гена luxR (luxR1 и luxR2). Анализ 8 штаммов *A. logei*, изолированных в акваториях Белого, Охотского и Берингова морей, показал наличие обеих копий гена luxR у всех исследуемых штаммов. Широкое распространение психрофильных штаммов с двумя

копиями luxR, по-видимому, свидетельствует о важности второй копии регуляторного гена для успешного существования вида в экологической нише низких температур. Однако функция ещё одного регулятора транскрипции LuxR1 остаётся неясной. С целью определить роль каждого luxR гена в чувствительности lux-оперона *A. logei* к Iop-протеазе и шаперонину GroEL/ES, гены luxR1 и luxR2, в составе гибридных плазмид, содержащих lux-оперон и luxR1 или luxR2, протестировали в диких и мутантных штаммах *E. coli* по шаперонину (gro+/gro-) и протеазе (Iop+ и Iop-) методом измерения интенсивности биолюминесценции. При добавлении в среду АИ в концентрации 10-5 М активация люминесценции в этих штаммах происходила по разному, если использовалась гибридная плазида с luxR2, и одинаково, если использовалась плазида с luxR1. Отсутствие шаперонина GroEL не оказывает влияние на биолюминесценцию клеток, содержащих плазмиду с luxR1, т.е., по-видимому, GroEL участвует в фолдинге белка LuxR2, но не LuxR1. Показано, что чувствительным к Iop-протеазе является только luxR2. Белок LuxR1 открывает промотор Pr1 независимо от наличия в клетке Iop-протеазы. GroEL является положительным модулятором активности белка LuxR2 *A. logei*, а Iop протеаза отрицательным, так же как и для белка LuxR *Aliivibrio fischeri*. Шаперонин GroEL и протеаза Iop не влияют на активность белка LuxR1 *A. logei*. Прикладным аспектом работы является конструирование lux-биосенсоров на основе генов lux-оперонов психрофильных бактерий.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ АКТИВНОСТИ PRE/TRE-ЭЛЕМЕНТА У *DROSOPHILA*

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

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

pavel-elizaryev@ya.ru

В ходе развития многоклеточных организмов в клетках каждого типа устанавливается определённый статус работы генов. Этот статус передаётся через множество последующих делений клеток. Группа белков Polycomb ответственна за поддержание репрессии транскрипции, в то время как белки Trithorax контролируют её активацию. У *Drosophila* белки групп Polycomb и Trithorax собираются на ДНК-регуляторных последовательностях, называемых Polycomb response elements (PREs) или Trithorax response elements (TREs). Как минимум некоторые PREs/TREs способны переключать свою активность между репрессией и активацией транскрипции. В данном исследовании мы создали модельную систему, в которой GAL4-активатор способен переключать активность PRE. Мы показали, что белки Polycomb остаются связанными с неактивным PRE-элементом даже в случае проходящей через него транскрипции. В работе обсуждается молекулярная основа этого явления.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 15-04-04208-а, №15-04-03973-а, №13-04-93106-CNRS_a).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ERK И MEK КИНАЗ В РЕГУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ И МОРФОГЕНЕЗА ПЛАНАРИЙ

Ермакова О.Н.¹, Ермаков А.М.¹, Бондаренко С.М.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ²ФГБОУ ВПО
Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

ao_ermakovy@rambler.ru

Актуальной проблемой в понимании процессов регенерации является исследование молекулярно-генетических механизмов, определяющих пространственно - временной ход регенерации и морфогенеза *in vivo*. Важными регуляторами пролиферации и дифференцировки клеток являются митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК), контролирующие ход и направление данных процессов. До настоящего времени роль ERK и MEK киназ в регенерации и морфогенезе остаются слабо изученными, тем более на уровне *in vivo*.

В качестве объекта исследования использовались пресноводные планарии *Schmidtea mediterranea*. Исследовали влияние на регенерацию головы и морфогенез планарий фармакологического ингибитора ERK – U0126 и РНК интерференцию ERK и MEK. Было

обнаружено, что ингибитор ERK приводит к существенному замедлению регенерации головной части и нарушению морфогенеза – наблюдали более 60 % животных с аномально развитым только одним глазом. При РНК интерференции экспрессии обнаруженных изоформ ERK и MEK наблюдали следующие явления: циклопичных животных (до 50%), недоразвитость бласты (5%), у 45% животных наблюдался нормальный фенотип. Также у циклопичных животных наблюдали аномальное развитие головных ганглиев и гиперпролиферацию необластов. Таким образом, нами показано, что ERK и MEK необходимы в процессах регенерации и морфогенеза низших животных – планарий, причем вероятно их роль опосредуется путем регуляции пролиферации и дифференцировки стволовых клеток – необластов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-01517-а и № 15-04-05948-а.

РОЛЬ ГЕНА *SYM31* ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) В РАЗВИТИИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КЛУБЕНЬКОВ

Жуков В.А., Жернаков А.И., Федорина Я.В., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.
ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

zhukoff01@yahoo.com

Бобовые растения в симбиозе с клубеньковыми бактериями (ризобиями) способны к биологической фиксации атмосферного азота. Мутация в гене *Sym31* гороха посевного приводит к образованию клубеньков, не фиксирующих азот, в которых бактерии не дифференцируются в азотфиксирующую форму – бактериоиды.

Из клубеньков растений линии Sprint-2Fix-, мутантных по гену *sym31*, а также корней и клубеньков растений исходной линии Sprint-2 была выделена РНК, секвенированная с использованием протокола MACE (massive analysis of cDNA ends) на приборе Illumina HiSeq2000 (компания GenXpro, Германия). Благодаря тому, что ген *Sym31* ранее был с высокой точностью локализован в геноме гороха, анализ синтенного района генома люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) позволил выявить около 70 генов, потенциально являющихся кандидатами на роль гомолога *Sym31* гороха. Соответствующие гены гороха были выявлены в секвенированном транскриптом, и среди них были обнаружены 4 гена, преимущественно экспрессирующиеся в клубеньках (уровень экспрессии в клубеньках «дикого типа» достоверно превышал уровень экспрессии в корнях). В последовательности одного из них, кодирующего сульфуразу молибденового кофактора, была обнаружена нуклеотидная замена у растений линии Sprint-2Fix- (*sym31*) по сравнению с исходной линией Sprint-2. Данный результат представляется интригующим, поскольку считается, что молибденовый кофактор, необходимый для работы нитрогеназы, должен иметь бактериальное, а не растительное происхождение.

Для определения детальной роли гена *Sym31* проведен анализ дифференциальной экспрессии генов растения в клубеньках линии Sprint-2 («дикий тип») и Sprint-2Fix- (*sym31*). Дифференциально экспрессирующиеся гены гороха аннотированы на основании сходства их мРНК с известными последовательностями люцерны слабоусеченной и других бобовых растений. В результате выявлены группы растительных генов, экспрессия которых контролируется геном *Sym31*. Продолжение работы позволит определить детальную роль гена *Sym31* в развитии азотфиксирующего симбиоза. Исследование поддержано грантами Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (13-04-01702-а, 13-04-01703-а и 14-04-01442-а).

КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНОВ *glnR* и *glnA* ИЗ *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Журавлева Д.Э., Халитова А.В., Каюмов А.Р.
ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

darya.ed@gmail.com

Несмотря широкое использование бактерий рода *Lactobacillus*, в настоящее время их азотный метаболизм остается неизученным. У бактерий *Lactobacillus plantarum* 8PA3 в геноме нами идентифицированы ген глутаминсинтетазы *glnA* и ген *glnR*, который кодирует фактор

транскрипции, гомологи которого у многих бактерий регулируют гены азотного обмена. Эти два гена объединены в оперон *glnRA*, белки имеют 85% идентичности с белками *Bacillus subtilis*. Поэтому можно ожидать, что роль и закономерности регуляции и экспрессии этих белков у *L.plantarum* и *B.subtilis* будут сопоставимы. Интересно, что гомологи данных белков у других бактерий необходимы в условиях ограничения по источнику восстановленного азота, что не соответствует обычным средам обитания лактобацилл. Поэтому интересно выяснить роль данных белков в клетках *L.plantarum*. Целью работы явилось получить штаммы, продуцирующие рекомбинантные белки GlnR и GS с аффинными метками.

Гены *glnR* и *glnA* получали с помощью ПЦР с геномной ДНК *L.plantarum* и клонировали в вектор pET15b с получением плазмид pET15b-LpGlnR и pET15b-LpGS. Данный вектор обеспечивает гиперпродукцию белков с N-концевой гексагистидиновой последовательностью. Белки были экспресированы в клетках кишечной палочки и очищены до электрофоретической гомогенности на Ni-NTA агарозе. Очищенная рекомбинантная глутаминсинтетаза обладала синтетической активностью. Анализ белка LpGlnR путем гельфильтрации выявил его способность к димеризации, что позволяет ожидать наличие ДНК связывающей активности.

Наши последующие исследования будут посвящены исследованию ферментативных, кинетических свойств глутаминсинтетазы и исследованию физиологической роли белков GlnR и глутаминсинтетазы в клетках *L.plantarum*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-04-02583.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ДИКИХ И КУЛЬТУРНЫХ ВИДОВ ХЛОПЧАТНИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИННЫХ МАРКЕРОВ

**Закирова Д.В., Урмонов Х., Салахутдинов И.Б., Эгамбердиев Ш.Ш.,
Абдуллаев А.А., Абдукаримов А.А.**

Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Министерства сельского и водного хозяйства, ассоциации «Узпахтасаноат», Ташкент, Узбекистан

catdasha@mail.ru

Диплоидные виды хлопчатника разделяются на 8 геномных групп (A-G и K). Африканская группа (A, B, E и F геномы) встречается в природе в Африке и Азии, в то время как D геном является коренным для Америки. Третий клад (C, G и K геномы) были найдены в Австралии. Культурные тетраплоидные виды представлены AD геномом. Оценка генетического разнообразия диких представителей рода *Gossypium* является важным аспектом в улучшении культивируемых сортов хлопчатника, так как в процессе длительной селекции они утратили ряд полезных генов присущих диким типам. Поэтому изучение генетической структуры популяций диких представителей и их связь с культурными сортами является актуальным.

С целью оценки генетического разнообразия и родства 19 образцов диких видов хлопчатника и двух культивируемых видов были генотипированы при помощи микросателлитных маркеров. Амплификация экстрагированной ДНК хлопчатника была выполнена с помощью ПЦР-анализа с использованием 108 микросателлитных праймеров из коллекций BNL, CIR, CM, GH, JESPR, NAU, TMB, которые дали 567 полиморфных локусов. Определение структуры популяции и кластерный анализ были проведены при помощи программ Structure 2.3.4.

Результаты анализов позволили разделить образцы на 6 субпопуляций. Представитель культурного *G. hirsutum* (AD геном) был выделен в отдельный кластер, второй кластер был представлен тремя американскими видами (D геном). Третий кластер включал в себя африканский и американские виды (A и D геномы). Африканские виды, представляющие B и E геномы попали в четвертый кластер. Пятая группа содержала в себе два американских вида D геномов и культурный вид *G. barbadense* (AD геном). Все австралийские виды (C и G геномы) и два американских (D геном) образовали шестой кластер.

Коэффициент расхождения (различия) между образцами, основанный на микросателлитных маркерах варьировал от 0,29 до 0,36. Коэффициент расхождения между культурными видами (AD геном) и дикими представителями хлопчатника составил 0,42, что обусловлено направленной селекцией культурных видов. Микросателлитные маркеры

позволяют эффективно классифицировать генотипы хлопчатника, принадлежащих к различным видам. Полученные полиморфные локусы могут быть ассоциированы с морфологическими признаками и/или другими агрономическими свойствами. Кроме того могут установить генетическую базу диких и культурных представителей хлопчатника, что позволит проведению селекционных экспериментов с использованием диких видов для улучшения культурных сортов.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДЕЛЕЦИИ ГЕНА *SWI1* НА ПРОЯВЛЕНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ ПРИОННОГО ДЕТЕРМИНАНТА [*NSI*⁺] У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Захарова А.Л.¹, Рыжова Т.А.^{1,2}, Галкин А.П.^{1,2}, Нижников А.А.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,

²Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

alx.zakharova@gmail.com

Прионы - это белки, способные в одинаковых физиологических условиях существовать в различных конформациях, как минимум, одна из которых обладает инфекционными свойствами. Ранее в нашей лаборатории был обнаружен нехромосомный фактор [*NSI*⁺] (*Nonsense Suppression Inducer* – индуктор нонсенс-супрессии), вызывающий супрессию нонсенс-аллелей *ade1-14* (UGA) и *trp1-289* (UAG) (то есть рост на селективных средах без аденина или триптофана, соответственно) на фоне продукции химерного белка Аβ-Sup35МС и делеции хромосомной копии гена *SUP35*. Было показано, что фактор [*NSI*⁺] демонстрирует нехромосомное наследование, элиминируется под действием хлорида гуанидина и проявляет цитоплазматическую инфекционность, что позволяет говорить о прионной природе данного детерминанта. Для поиска вероятных кандидатов на роль детерминанта [*NSI*⁺] в нашей лаборатории ранее был разработан протеомный метод PSIA (*Proteomic Screening for Identification of Amyloid proteins*). С помощью PSIA в детергент-устойчивых белковых фракциях из штамма [*NSI*⁺] был выявлен структурный белок приона [*SWI*⁺] – Swi1. Анализ, проведенный при помощи флуоресцентной микроскопии, показал, что доля клеток штамма [*NSI*⁺], содержащих агрегаты химерного белка Swi1-YFP, статистически достоверно выше, чем доля таких клеток в штамме [*nsi*]. Делеция гена *SWI1* вызывала сильную нонсенс-супрессию как в штамме [*NSI*⁺], так и [*nsi*]. Введение плазмидной копии *SWI1* приводило к подавлению нонсенс-супрессии в обоих штаммах. Последующий анализ показал, что в полученных штаммах, несущих делецию *SWI1*, частоты агрегации химерного белка Swi1-YFP статистически достоверно не отличаются. Таким образом, в настоящем исследовании показано, что делеция гена *SWI1* вызывает необратимую элиминацию детерминанта [*NSI*⁺].

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-04-32213.

СОЗДАНИЕ ФЕРМЕНТОВ - ЭНДОНУКЛЕАЗ РЕСТРИКЦИИ С ЗАДАНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Ибряшкина Е.М.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН,
Пушино, Россия

ibryashkinae@mail.ru

Системы рестрикции-модификации являются внутриклеточной системой иммунной защиты от чужеродной ДНК. Ферменты систем рестрикции-модификации обнаруживают высокое разнообразие их структурной и доменной организации. Существуют предположения, что эволюция ферментов рестрикции шла по пути усложнения доменной организации и давала возможность белкам специфически взаимодействовать с большим количеством сайтов узнавания (подобно эндонуклеазе EcoRII). Приобретение ферментами рестрикции новых структурных доменов могло происходить в процессе генетических перестроек при

горизонтальном переносе их генов либо в результате встраивания фрагментированной чужеродной ДНК в геном. Подобные изменения эволюционно накапливались и привели к возникновению новых белков с новыми функциями. Исходя из этой гипотезы, предполагается сконструировать на базе существующих эндонуклеаз новые эндонуклеазы рестрикции с доменной структурой и новыми ДНК-связывающими свойствами. Основываясь на уникальных свойствах эндонуклеазы рестрикции EcoRII, С-домен, которой способен функционировать, как самостоятельная эндонуклеаза, а N-домен выступает в роли аллостерического регулятора активности, обеспечивая взаимодействие с двумя копиями сайта узнавания, в настоящей работе были получены плазмидные конструкции для экспрессии рекомбинантных ферментов рестрикции на базе Ecl18kI и SsoII с шивкой N-концевого домена EcoRII (плазмиды pLI-I и pLI-II соответственно). Экспрессионные конструкции были протестированы методами секвенирования и ПЦР на наличие полноразмерных генов эндонуклеаз Ecl18kI и SsoII с пришивкой гена, кодирующего N-концевой домен эндонуклеазы EcoRII. Подобраны и оптимизированы условия роста и индукции клеток E.coli штамма-производителя рекомбинантного белка на базе эндонуклеазы Ecl18kI. Трансформанты E. coli с гибридной конструкцией на базе гена ssoII (pLI-II) находятся на стадии проверки и анализа данных. В экспериментах in vivo по ограничению роста фага лямбда на штамме-производителе E.coli/pLI-I и анализе in vitro гидролитической активности в бесклеточном экстракте, доказана работоспособность полученной конструкции наличием каталитической эндонуклеазной активности рекомбинантного белка. Профиль гидролиза гибридного белка LI-I совпадает с таковым для нативной эндонуклеазы Ecl18kI, что свидетельствует о сохранении специфичности узнавания ДНК рекомбинантным белком. Для получения препаративного количества гибридного белка с целью анализа его доменной структуры осуществляется подбор условий выделения и очистки рекомбинантного продукта.

Работа выполняется при поддержке гранта РФФИ № 14-04-32020 мол_a.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ФАКТОРОВ СБОРКИ ХРОМАТИНА В РЕГУЛЯЦИИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ПУТЕЙ РЕПАРАЦИИ ДНК У ДРОЗОФИЛЫ

Ильина Ю.А., Орлянская О.С., Конев А.Ю.

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова
НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

poltoradnya@inbox.ru

Сегодня представление о восстановлении ДНК после повреждений постоянно расширяется благодаря пониманию роли хроматиновых преобразований. На завершающем этапе репарации ДНК происходит восстановление хроматиновой структуры, но еще не изучены все участники этого процесса. Мы впервые для высшего многоклеточного организма свели в одном геноме мутации, затрагивающие рекомбинационную ветвь репарации ДР ДНК (*rad201G1*) и хроматин-ассемблирующую активность (*Acf1*). Мутация *rad201G1* была выделена в ЛГЭ ОМРБ ПИЯФ по признаку радиочувствительности. Она локализована в районе 45B1. При изогенизации 2-ой хромосомы были получены радиочувствительные сублинии *rad(D2)* и *rad(D3)*, их молекулярный анализ выявил инсерцию ретроретротранспозона *opus* в регуляторной части гена *Rad51C*.

Нарушение в одном геноме работы генов *Rad51C* и *Acf1* снизило жизнеспособность эмбрионов до 20% (*cn rad(D3) c;Acf1(7)* и *cn rad(D2) c;Acf1(1)*). В случае с *cn rad(D3) c;Acf1(1)* линией мы получили синтетическую леталь, т. к. ее выживаемость на эмбриональной стадии составила менее 5%. Полученная почти 100% гибель двойных мутантов без воздействия ДНК-повреждающих агентов объяснима с точки зрения невозможности таких мух эффективно репарировать разрывы ДНК, возникающие спонтанно в естественных процессах метаболизма ДНК. Данный факт позволяет сделать вывод о том, что АТФ-зависимое преобразование организации хроматиновой структуры играет одну из ключевых ролей в регуляции процессов репарации ДНК по рекомбинационному пути. Не смотря на крайне низкую выживаемость исследуемых двойных мутантов *rad201G1-Acf1* на стадии эмбрионов, мы проанализировали их жизнеспособность на куколочной стадии. Полученные данные показали, что на стадии куколки у дрозофилы в естественных условиях исследуемые мутации и их комбинации не оказывают

влияния на жизнеспособность, что хорошо согласуется с данными по экспрессии, опубликованными в базе данных дрозофилы *Flybase* и подтверждает результаты для эмбриональной стадии и связь гибели именно с действием исследуемых мутаций.

На сегодняшний день мы смогли проанализировать поведение двойных мутантов *rad201G1-Acf1* в раннем эмбриогенезе (до 4 часов развития) после воздействия рентгеновского излучения. Полученные результаты показали, что чувствительность двойных мутантов к излучению обусловлена только нарушением работы гена *Acf1*. Репарация ДНК по рекомбинационному пути в раннем эмбриогенезе дрозофилы не осуществляется. Работа продолжается и будет изучен более поздний эмбриогенез.

ПОИСК НОВЫХ ПРОМОТОРНЫХ РЕГИОНОВ ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА RUNX1/RUNX1T1

Ильюшёнко И.Н., Гринев В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

nov.ilyushonok@gmail.com

Результатом сбалансированной транслокации t(8;21)(q22;q22) является образование химерного онкогена RUNX1/RUNX1T1, который вовлекается в процесс развития острого миелоидного лейкоза. Его транскрипция находится под контролем двух канонических промоторных регионов гена RUNX1; химерные белковые продукты несут N-концевую часть белка RUNX1 с его ДНК-связывающим доменом и практически полноразмерный белок RUNX1T1, сохраняющий все функциональные домены, на C-конце.

Мы выдвигаем гипотезу о наличии у гибридного гена RUNX1/RUNX1T1 неаннотированных промоторных регионов, которые могут существенно расширить спектр его транскриптов, и, в частности, обеспечить транскрипцию и трансляцию функционального белка RUNX1T1 с гибридного локуса. Для проверки этой гипотезы мы предлагаем построить описательную биоинформатическую модель потенциальных промоторных регионов гибридного гена, и верифицировать её на уровне генома и транскриптома.

Для построения модели мы использовали базу данных промоторов млекопитающих MPromDB, из которой получили координаты 16 потенциальных промоторных регионов гена RUNX1 и 8 промоторных регионов гена RUNX1T1. Чтобы понять, какие из этих областей войдут в состав гибридного гена после транслокации, была составлена таблица, содержащая последовательности и хромосомные координаты 64 уникальных точек разрыва-воссоединения при транслокации t(8;21). Показано, что гибридный интрон гена RUNX1/RUNX1T1 имеет крайне разнообразную структуру: можно выделить несколько возможных вариантов сочетания промоторных регионов, вследствие чего спектры транскриптов гибридного гена у разных больных острым миелоидным лейкозом могут различаться.

Далее нами была осуществлена проверка наличия транскрипционной активности в предсказанных промоторных регионах гена RUNX1 с помощью RT-PCR. Удалось обнаружить транскрипцию мРНК в регионах №3, 5, 7, 8, 10, 11 (RUNX1/PR05 и RUNX1/PR08 являются каноническими).

Верифицировать промоторную активность на уровне геномной ДНК мы предлагаем с помощью лентивирусного вектора pHR-SIN-cPPT-SIEW путём замены внутреннего промотора, контролирующего синтез белка eGFP, на интересующий нас сегмент генома. Ген белка и промоторная область разделены участком IRES, поэтому даже если при клонировании обширного промоторного региона мы захватим точку инициации трансляции, это не помешает синтезу полноценного белка с репортёрного гена.

РОЛЬ БЕЛКА L16 И ЕГО МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОНТАКТОВ В ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНО-АКТИВНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ *IN VIVO*

Исаев А.Б., Коробейникова А.В., Гарбер М.Б., Гонгадзе Г.М.

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

tcft18@gmail.com

Белок L16, неотъемлемый компонент рибосом всех организмов, образует обширные контакты с функционально важными спиралью 23S (28S) рРНК (H89 – район пептидилтрансферазного центра и H38 – A-site finger). В бактериальной рибосоме белок L16 взаимодействует еще с белком L25, который является особенностью бактерий. В этом контакте участвует только несколько С-концевых остатков белка L16. Однако нами показано, что в клетках Δ L25-штамма *Escherichia coli* присутствует фракция неактивных 50S субчастиц, лишенных белка L16. Мы предположили, что контакт L16 с L25 важен для удержания L16 в рибосоме. В то же время, в некоторых бактериях рода *Bacillus* белок семейства L25 отсутствует или синтезируется только при стрессе. Возможно, что в рибосомах этих бактерий дополнительные контакты L16 с 23S рРНК компенсируют отсутствие контакта с белком L25. Целью настоящей работы было выяснить роль межмолекулярных контактов L16 в сборке рибосомы *in vivo*. Для решения одной из задач создан ряд штаммов *E. coli*, в которых интактный белок L16 заменен на мутантную форму с изменениями в С-концевом участке: K127A, K133L, K127A/K133L или K127L/K133L. Указанные мутации в белке L16 (за исключением K127A) приводят к изменениям в росте клеток и свойствах их рибосом. Так, при замене в белке K133L замедляется рост клеток на 25%, а K127L/K133L – на 35%. Анализ рибосом из этих штаммов показывает наличие дефектной фракции 50S субчастиц, в которой количество белка L16 редуцировано. Таким образом, мы подтвердили гипотезу о том, что контакт с белком L25 важен для удержания L16 в рибосоме *E. coli*. Для решения следующей задачи сначала мы создали штамм *E. coli*, в котором белок L16 заменен на его гомолог из *Bacillus subtilis*. Показано, что данный штамм практически не отличается по скорости роста и активности аппарата трансляции от контрольного штамма. Следующим шагом было проверить, способен ли белок L16 *B. subtilis* компенсировать отсутствие рибосомного белка L25 в клетках *E. coli*. Был создан соответствующий штамм и оказалось, что замена белка L16 на его гомолог из *B. subtilis* не приводит к заметному ускорению роста клеток Δ L25-штамма. Хотя полученные данные указывают на взаимозаменяемость белков семейства L16, но, по-видимому, белку из *B. subtilis* не удастся полностью реализовать свои контакты с РНК в рибосоме *E. coli*. Работа поддержана грантами РФФИ (13-04-00587-а; 14-04-31534 мол_а) и Программой МКБ РАН.

ОЧИСТКА БЕЛКА GlnK ИЗ КЛЕТОК РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* BL21 PASK-LBRGLNK

Исхакова З.И., Тарасов Н.В., Каюмов А.Р.

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

zalinunya@mail.ru

В настоящее время азотный метаболизм молочнокислых бактерий *Lactobacillus* практически не исследован, несмотря на их широкое применение в производстве молочнокислых продуктов, квашении и силосовании. Таким образом, анализ молекулярных механизмов регуляции азотного метаболизма в клетках лактобацилл является актуальной задачей. В единичных работах имеются данные о некоторых аспектах особенностей азотного метаболизма лактобацилл. Предварительный анализ геномов *Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus buchneri* выявил наличие гена белка GlnK, гомолог которого в клетках бактерий представляет собой небольшой регуляторный белок, принадлежащий к семейству РП белков, участвующих в регуляции азотного метаболизма. В клетках *B. subtilis* белок GlnK, по-видимому, регулирует активность мембранного белка AmtB и фактора транскрипции TnrA играющего ведущую роль в контроле активности генов азотного метаболизма у *B. subtilis*.

Целью работы явилось клонирование и очистка белка GlnK молочнокислых бактерий *Lactobacillus brevis*. Для этого синтезировали ген *glnK* из *L. brevis*. и клонировали в

экспрессионный вектор pASK-IBA3. Затем, методом гибсоновской реакции была получена генетическая конструкция pASK-LbrGlnK с аффинным стрептактиновым тагом для дальнейшей гиперпродукции белка GlnK, которая была трансформирована в штамм *E.coli* BL21. Наличие генетической конструкции pASK-LbrGlnK в рекомбинантном штамме подтвердили методом электрофореза в агарозном геле. Индукцию гена рекомбинантного штамма проводили с добавлением ангидротетрацилин гидрохлорида (АГТ) с конечной концентрацией 2 мг/мл в течение 10 часов при 30⁰С. Таким образом, был получен рекомбинантный штамм *E.coli* BL21 pASK-LbrGlnK, обеспечивающий гиперпродукцию рекомбинантного белка GlnK, и проведена индукция.

Очистку рекомбинантного белка GlnK проводили на Strep-tactin сефарозе. Клеточный экстракт культуры рекомбинантного штамма *E.coli* BL21 pASK-LbrGlnK наносили на колонку с Strep-tactin сефарозой и элюировали буфером, содержащим 2,5 мМ дестиобиотин. Фракции элюции анализировали с помощью SDS-PAGE электрофореза. Таким образом, было получено 15 мг белка в электрофоретически гомогенном состоянии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-32317 мол_а.

РЕКОНСТРУКЦИЯ ХОЛЕСТЕРИНГИДРОКСИЛАЗНОЙ/ЛИАЗНОЙ ФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ БЫКА В БЫСТРОРАСТУЩИХ МИКОБАКТЕРИЯХ

Карпов М.В.^{1,2}, Стрижов Н.И.¹, Новикова Л.А.³, Донова М.В.¹

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

²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино;

³ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия

mikemikemikarp@mail.ru

Сапрофитные быстрорастущие микобактерии обладают способностью эффективно трансформировать липофильные субстраты, в том числе, стерины. В данной работе оценивали возможности использования стеринтрансформирующих микобактерий в качестве клеток-хозяев для гетерологической экспрессии белков стероидогенеза млекопитающих. Начальный этап стероидогенеза у млекопитающих, конверсия холестерина в прегненолон, катализируется трехкомпонентной ферментной системой, состоящей из холестерингидроксилазы/20,22-лиазы (цитохрома P450_{scc}, CYP11A1), аденодоксинредуктазы (ADR) и аденодоксина (ADX).

На базе *E. coli* - микобактериального плазмидного шаттл-вектора были организованы искусственные опероны, содержащие кДНК копии генов, кодирующих зрелые формы CYP11A, ADX и ADR из коры надпочечников быка.

- pNS10, с одиночным геном P450_{scc};

- pNS11 с трехцистронной вставкой, несущей делетированный аденодоксин (ADR, ADX(1-108), P450_{scc});

- pNS11iw с инвертированным расположением генов и полноразмерным мутантным аденодоксином в их составе (P450_{scc}, ADX(1-S112W), ADR). Конструкция pNS11iw была организована в связи с необходимостью улучшить стехиометрическое соотношение синтезируемых белков и их взаимодействие в единой электронтранспортной цепи.

Данные плазмиды были перенесены в клетки *Mycobacterium smegmatis* mc²155. Хемоиндукция ацетамидом привела к высокому уровню экспрессии всех исследуемых белков. Индуцированные культуры трансгенных микобактерий культивировали в присутствии субстратов биоконверсии: холестерина и β-ситостерина. Стероиды анализировали методами ТСХ, ВЭЖХ и МС.

Рекомбинантные микобактерии продуцировали прогестерон из обоих субстратов только при наличии всех трех компонентов ХГЛ-системы в составе искусственных оперонов (pNS11 и pNS11iw). Образование прогестерона из прегненолона в микобактериях обусловлено активностью собственной 3β-гидроксистероиддегидрогеназы. Максимальный выход продукта (0.08 мМ) показан для штамма *M. smegmatis* (pNS11).

Результаты свидетельствуют о том, что бактериальные ферредоксины и ферредоксинредуктазы, повсеместно присутствующие в микобактериях, не в состоянии

поставлять электроны для P450_{scs}. Организация генов в pNS11 обеспечивает наилучшее соотношение и оптимальную структуру белковых продуктов для работы системы P450_{scs} в микобактериальных клетках. Открываются широкие перспективы использования стеринтрансформирующих микобактерий при создании эффективных рекомбинантных штаммов-продуцентов биоактивных C21-стероидов.

АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АМИЛОИДОВ *IN VIVO* МЕТОДАМИ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

Качкин Д.В.¹, Рубель А.А.¹, Чернов Ю.О.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ²Технический университет штата Джорджия, США; Филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

pspdaniel@mail.ru

Целый ряд нейродегенеративных заболеваний человека связан с накоплением и агрегацией аномально уложенных белков – амилоидов. К таким заболеваниям относятся широко известные расстройства, такие как болезни Альцгеймера, Гентингтона, Паркинсона и многие другие. В настоящее время все амилоидозы являются неизлечимыми. В связи с этим исследование механизмов образования и взаимодействия амилоидов весьма актуальны.

Дрожжи *S. cerevisiae* являются удобной моделью для анализа взаимодействия амилоидов. Используя дрожжевую модель, в нашей лаборатории было показано, что агрегаты белков PrP и A β способны физически взаимодействовать между собой также были выявлены конкретные участки PrP, отвечающие за это взаимодействие.

В ходе данной работы, мы исследовали возможность взаимодействия агрегатов PrP и A β с другими амилоидами. Для этого мы получили дрожжевые штаммы, продуцирующие прионный домен дрожжевого белка Sup35, а также один из белков PrP или A β , слитые с флуоресцентными белками. Анализ взаимодействия агрегатов амилоидных белков проводили методами конфокальной микроскопии.

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ 1.50.2218.2013, а также за счёт средств грантов РФФИ № 14-50-00069 и РФФИ № 15-04-08159. Для выполнения исследований использовалась приборная база ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «МиКТ» научного парка СПбГУ.

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОРНОМА ПРИ СТРЕССЕ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В КЛЕТКАХ ЛИНИИ JURKAT

**Клементьева Т.С., Меситов М.В., Московцев А.А., Соколовская А.А.,
Кубатиев А.А.**

ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

bioinf@mail.ru

Нарушение процесса окислительного фолдинга белка в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) может привести к накоплению белковых агрегатов в люмене ЭПР и индукции стресса ЭПР. Адаптация к стрессу ЭПР зависит от активации ответа на белки с ненативными конформациями (unfolded protein response, UPR), системы внутриклеточных сигнальных путей, инициируемых трансмембранными белками ЭПР PERK, IRE1 и ATF6.

Индукция UPR приводит к увеличению экспрессии генов, вовлеченных в поддержание гомеостаза ЭПР и фолдинг белка, включая шапероны и фолдазы. Влияние стресса ЭПР на микроРНОм клетки и роль микроРНК в посттранскрипционной регуляции генов, ассоциированных со стрессом ЭПР, изучены недостаточно.

Для идентификации дифференциально экспрессирующихся микроРНК в клетках Jurkat (Т-клеточная лейкемия человека) при стрессе ЭПР, индуцированном дитиотрейтолом (2,5мМ, 6 часов), было проведено высокопроизводительное секвенирование NGS с использованием платформы Illumina. Для подтверждения факта развития стресса ЭПР была проанализирована

экспрессия мРНК генов – основных участников UPR – BiP, DDIT3 и XBP1 с использованием ПЦР «в реальном времени».

В результате проведенного высокопроизводительного секвенирования и биоинформатического анализа нами были получены следующие результаты:

– обнаружено 50 дифференциально экспрессирующихся микроРНК, из которых экспрессия 20 была повышена, а 30 понижена в опытных образцах по сравнению с контрольными;

– обнаруженные микроРНК модулируют следующие сигнальные пути и внутриклеточные процессы: деградация РНК, процессинг экспонированных интрон-содержащих пре-мРНК, сплайсинг, убиквитин-зависимый протеолиз, мембранный трафик, опосредуемые кальцием сигнальные пути, метаболизм аскорбата и альдарата, сигнальный путь mTOR, сигнальные каскады с участием фосфатидилинозитола, сигнальный путь Notch;

– 5'-цепь микроРНК miR-616 (hsa-miR-616-5p), которая содержится в первом интроне гена DDIT3, индуцируется при стрессе ЭПР в клетках Jurkat и коэкспрессируется с геном DDIT3. Анализ *in silico* выявил синергизм между функциями hsa-miR-616-5p и DDIT3, что может указывать на корегуляцию экспрессии hsa-miR-616-5p и DDIT3.

АКТИВНОСТЬ ПРОМОТОРА ГЕНА *SNAIL* В ОПУХОЛЕВЫХ И НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Кондратьева Л.Г.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

liakondratyeva@yandex.ru

Опухоль представляет собой комплекс различных клеток, где помимо трансформированных раковых, присутствует значительное количество нормальных клеток организма, формирующих опухолевую строму. Доля клеток стромального микроокружения некоторых типов опухолей может достигать 90% их общего объема. Поэтому строма является потенциально не менее важной мишенью противоопухолевой терапии, чем непосредственно раковые клетки. Одно из преимуществ лечения, ориентированного на строму заключается в большей генетической стабильности клеток микроокружения по сравнению с трансформированными клетками, которые могут накапливать адаптивные мутации и быстро приобретают устойчивость к лекарственным препаратам.

Существует подход к уничтожению опухолевых клеток, называемый терапией генами суицидального воздействия. Он основан на доставке в опухолевые клетки “генов-убийц”, кодирующих фермент, модифицирующий вводимый низкотоксичный агент в высокотоксичное производное. Реализация такого подхода в стромальных клетках обеспечит образование в них диффундирующих токсинов для подавления роста соседних злокачественных клеток. Это может быть достигнуто посредством конструирования векторов, несущих терапевтические гены под контролем промоторов генов, активно участвующих в процессах формирования и жизнедеятельности стромы. Например, может быть использован промотор гена *SNAIL*, кодирующего транскрипционный фактор *SNAIL*, который осуществляет негативную регуляцию экспрессии генов посредством связывания с E-боксами в составе промоторов этих генов, а также является индуктором эпителиально-мезенхимального перехода.

Промоторная область гена *SNAIL* была клонирована в репортерные конструкции, содержащие ген люциферазы под контролем изучаемого промотора, и для исследования его активности и специфичности проведены транзистентные трансфекции клеточных линий рака поджелудочной железы PANC-1 и MiaPaCa-2, фибробластов поджелудочной железы IVP-9TS и эндотелия кровеносных сосудов HUVEC. Промотор гена *SNAIL* показал более высокую относительную активность по сравнению с исследованными ранее вариантами стромального промотора гена *SPARC* во всех изученных клеточных линиях. Удаление E-бокса из конструкции, несущей промотор *SNAIL*, привело к увеличению активности люциферазы в исследованных клеточных линиях. Кроме того, промотор гена *SNAIL* обладал более высокими активностями в раковых клеточных линиях по сравнению с известным раковоспецифичным с широким спектром активности промотором гена сурвивина человека (phSurv). Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ACE, BDNF, CCK, CCK1R, CCK2R, CGRP, DBH, MTDH, MTHFR, MTR, NOS1, NOS2, NOS3 С МИГРЕНЬЮ

**Кондратьева Н.С.¹, Азимова Ю.Э.^{2,3}, Скоробогатых К.В.³, Сергеев А.В.^{3,4},
Кокаева З.Г.¹, Табеева Г.Р.^{3,4}, Климов Е.А.^{1,5}**

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

²ФГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, ³Университетская клиника головной боли, ⁴ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,

⁵Университетская диагностическая лаборатория, Москва, Россия

natalia_kondratieva@mail.ru

По данным ВОЗ мигрень является одной из ведущих причин потери трудоспособности (9 место). По данным эпидемиологических исследований распространенность мигрени в мире за 1 год среди взрослого населения составляет в среднем от 10.2% (Steiner T., 2006) до 14.7% (Global Burden of Disease Study, 2010). В России цифры распространенности мигрени превышают мировые показатели почти в 1,5-2 раза – 20.3%, а ежегодные косвенные расходы (потеря дней трудоспособности) по причине первичных головных болей составляют 22.8 млрд долларов США (1,75% от валового внутреннего продукта России) (Auzenberg et al., 2014). На данный момент считается, что боль при мигрени связана с активацией тригеминоvascularной системы и центральной сенсibilизацией, а аура – с распространяющейся корковой депрессией. Для мигрени показан коэффициент наследования 0,55. В формировании патогенетических механизмов участвует несколько генов. В результате поиска в базах данных научной литературы генов и белков, ассоциированных с мигренью, нами были выбраны следующие гены: ACE (rs4646994), BDNF (rs2049046, rs6265, rs11030107), CCK1R (rs1799723, rs1800908, rs1800857), CCK2R (rs1805002, rs1805000), CCK (rs1157184), CGRP (rs1553005), DBH (rs1611115, rs2097629, 19 bp indel), MTDH (rs1835740), MTHFR (rs1801133), MTR (rs1805087), NOS1 (rs41279104), NOS2 (rs2779249), NOS3 (rs2070744). Исследование проводилось на выборке пациентов из Москвы и Московской области, страдающих мигренью (146 пациентов с мигренью, МКГБ-III) и контрольной выборке (362 необследованных жителей Москвы). Работа проведена с использованием стандартных молекулярно-биологических (ПЦР-ПДРФ, реал-тайм ПЦР) и статистических методов. Для SNP во всех генах кроме rs1800857 (CCK1R), rs1805000 (CCK2R), rs1801133 (MTHFR) не выявлено ассоциаций с заболеванием ($p > 0,05$ во всех случаях). Для генов MTHFR (rs1801133), CCK2R (rs1805000), CCK1R (rs1800857) показана ассоциация с мигренью (во всех случаях $p \leq 0.0002$), в том числе и влияние гена MTHFR (rs1801133) на возраст начала заболевания. В ходе исследования выявлено, что комплексные гаплотипы CCK1R_rs1800857:T,T+nNOS_rs41279104:G и CCK1R_rs1800857:T,T + eNOS_rs2070744:G являются протективными (в 6,2 раза чаще встречаются в контрольной выборке). Выявлено 34 комплексных гаплотипа, повышающих риск развития мигрени более чем в 3 раза.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ГЕНОТРОФОВ ЛЬНА

**Коробан Н.В.¹, Беленикин М.С.¹, Большева Н.Л.¹, Сперанская А.С.^{1,2},
Дмитриев А.А.¹, Криницына А.А.², Зеленин А.В.¹, Муравенко О.В.¹,
Кудрявцева А.В.¹, Мельникова Н.В.¹**

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,

²ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

mnv-4529264@yandex.ru

У льна посевного (*Linum usitatissimum* L.) существуют линии, называемые генотрофами, у которых в ответ на стресс от недостаточного или избыточного питания возникают наследуемые генетические изменения. Показано, что у генотрофов изменяется фенотип, а также количество ядерной ДНК, генов рибосомной РНК и появляется вставка LIS-1. Несмотря на

многочисленные генетические исследования, посвященные генотрофам, на данный момент неизвестны механизмы их формирования.

С использованием Next Generation Sequencing (NGS) секвенированы малые РНК, транскриптом и геном генотрофов льна (выращены в условиях недостаточного и избыточного питания), а также исходной линии *Stormont Cirrus*, из которой они были получены (выращена в оптимальных условиях). Методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на расширенной выборке образцов проведена оценка экспрессии микроРНК и их потенциальных мишеней.

Впервые идентифицированы 96 консервативных микроРНК, экспрессирующихся в растениях льна. Также найдены 475 новых потенциальных микроРНК и предсказаны их целевые гены. Определены микроРНК с дифференциальной экспрессией в различных условиях питания. Методом ПЦР-РВ на расширенной выборке образцов показана дифференциальная экспрессия в условиях недостаточного или избыточного питания для *lus-miR-N1*, *lus-miR395* и *lus-miR399*. Выявлена отрицательная корреляция экспрессии *lus-miR399* и ее потенциального целевого гена, кодирующего один из ключевых элементов реакции убиквитинирования – белок UBE2, а также *lus-miR-N1* и ее возможной мишени - гена, кодирующего белок UBE1, который катализирует первый этап реакции убиквитинирования. Впервые выполнено NGS-секвенирование генома и транскриптома генотрофов льна. Найдены гены льна с дифференциальной экспрессией при недостатке или избытке удобрений, которые могут участвовать в формировании генотрофов.

Идентификация новых микроРНК льна вносит вклад в изучение роли малых РНК растений в регуляции биологических процессов. Полученные данные о дифференциальной экспрессии микроРНК и мРНК позволяют лучше понять процессы, происходящие в растениях при стрессовых воздействиях, а также процесс формирования генотрофов льна.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП Геном ИМБ РАН (http://www.eimb.ru/RUSSIAN_NEW/INSTITUTE/ccu_genome_c.php) при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-04-06198-а.

РОЛЬ БЕЛКА L30 В ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНО-АКТИВНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ *IN VIVO*

Коробейникова А.В., Пашина Л.С., Гарбер М.Б., Гонгадзе Г.М.
ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

kav-20@rambler.ru

Рибосомный белок L30 обнаружен во всех известных организмах. Согласно кристаллографическим данным белок L30, являясь компонентом центрального протуберанца 50S субчастицы, не взаимодействует с лигандами трансляции, но образует обширные контакты с функционально важными участками второго домена 23S рРНК (основаниями спиралей H38 (A-site finger), H39, H41 (основание ГТФаза ассоциированного центра) и H45). Эти данные указывают на то, что белок L30 может опосредованно влиять на работу указанных функциональных центров рибосомы. Однако до сих пор этот вопрос не был исследован. Ранее нами был получен Δ L30 штамм *Escherichia coli* и показано, что рибосомы из этого мутантного штамма не отличаются от контрольных рибосом по физико-химическим свойствам (компактности, ассоциации субчастиц и компонентному составу), но менее эффективно синтезируют природный пептид *in vivo*.

В настоящей работе исследовано влияние белка L30 на конформацию участков 23S рРНК, прилегающих к этому белку. Используя метод химического пробинга РНК, показано, что в рибосомах, собранных в клетках Δ L30 штамма *E. coli*, изменяется доступность модифицирующим агентам некоторых участков второго домена 23S рРНК. Обнаружено, что кроме нуклеотидов, расположенных в сайте связывания белка L30 с РНК (A928, U932, A933, C948), изменения происходят в некоторых соседних участках второго домена 23S рРНК (C865, A910, G916, G956-A959, G1038, G1071 и G1087), которые не имеют прямых контактов с данным белком. Эта вторая группа нуклеотидов расположена в функционально важных участках рибосомы (районы контактов белка L16 и 5S рРНК со спиралью H38 и H39 23S рРНК, а также в ГТФаза ассоциированном центре). Компьютерный анализ показал, что структура данных участков в интактной рибосомной субчастице очень стабильна. Таким

образом, на основании полученных в работе данных можно сделать заключение, что отсутствие белка L30 влияет на стабильность структуры РНК в указанных функционально важных районах, что, в свою очередь, отражается на эффективности биосинтеза белка в бактериальной клетке.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00587 и Программой «Молекулярная и клеточная биология» РАН.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА КРИСТАЛЛОВ ЛАККАЗЫ ИЗ *STREPTOMYCES GRISEOFLAVUS* AC-993

**Костарева О.С.¹, Трубицина Л.И.², Габдулхаков А.Г.¹, Лисов А.В.², Гарбер М.Б.¹,
Тищенко С.В.¹**

¹ФГБУН Институт белка РАН, ²ФГБУН Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Россия

oskostareva@gmail.com

Лакказы принадлежит к семейству медь-содержащих оксидаз. Лакказы бактериального происхождения отличаются высокой термостабильностью, устойчивостью к ингибиторам, катализируют реакции в более широком диапазоне рН, чем эукариотические. К настоящему времени бактериальные лакказы мало изучены. Лишь для лакказы из бактерии *Streptomyces coelicolor* ведётся детальный структурный и мутационный анализ. Структурный анализ других бактериальных лакказ с точки зрения поиска причин их термостабильности и каталитической активности в щелочном диапазоне рН представляет большой интерес, как в фундаментальной, так и в прикладной областях исследований.

Была получена генетическая конструкция на основе плазмиды pQE30, несущая ген лакказы из бактерии *S. griseoflavus* Ac-993, лишённой сигнального пептида, создан штамм-суперпродуцент, белок очищен до гомогенного состояния последовательными хроматографиями на Ni-NTA агарозе и Superdex 200. Получены пригодные для рентгеноструктурного анализа кристаллы, которые выросли до максимального размера за 2-3 недели. Сбор данных с кристаллов был произведен на синхротроне BESSY II, линия BL14.1 (Берлин, Германия), с использованием CCD детектора RAYONIX MX-225.

Кристаллы лакказы *S. griseoflavus* отражали рентгеновские лучи с пределом разрешения 2,0 Å. Пространственная группа - P21, параметры ячейки, (Å, °) - a=74.640, b=94.720, c=117.400, α=γ=90.0, β=90.67. Ведётся работа по определению пространственной структуры белка методом молекулярного замещения. В качестве стартовой модели используется модель структуры лакказы *S. coelicolor*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-03002-а) и Программы Президиума МКБ РАН.

МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРЁХ ПОПУЛЯЦИЙ МЕДУЗ *AURELIA AURITA*

Котова А.В., Адонин Л.С.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

anastkotova@gmail.com

Сцифоидные медузы из рода *Aurelia* – наиболее изученные представители типа Cnidaria. На протяжении прошлого века исследователи выделяли разное количество видов в роде *Aurelia*, но к концу 20-го века только *A. aurita*, *A. limbata*, *A. labiata* признаны морфологически отличимыми. *A. aurita* долгое время считалась видом-космополитом из-за морфологического сходства взрослых фертильных особей из разных географически удаленных популяций. Характерной чертой медуз является наличие «толстой» прослойки межклеточного вещества – мезоглеи, заключенной между двумя эпителиальными слоями (эпи- и гастродермой). Мезоглеин – один из мажорных белковых компонентов мезоглеи, открытый в нашей лаборатории. В настоящей работе провели сравнение мезоглеина и его гена у медуз из трех популяций: Белого (БМ), Чёрного (ЧМ) и Японского морей (ЯМ). При сравнении SDS-электрофореграмм гомогенатов

мезоглеи выяснилось, что набор белковых полос разных популяций сходен. Однако, в мезоглее медуз из ЯМ присутствует белок с молекулярной массой около 53/55 кДа, в то время как масса мезоглеина медуз из БМ и ЧМ – 47 кДа. Антитела против мезоглеина медуз из БМ связывают только белок 47 кДа. Белок 53/55 кДа не выявляется антителами против мезоглеина ни на иммуноблотах, ни на парафиновых срезах. Возможные различия в структуре гена проверили методом ПЦР с праймерами, специфичными к гену мезоглеина медуз из БМ. ПЦР-продукты ожидаемой длины получили только на матрице кДНК, полученных с poly(A)RNA мезоглеальных клеток медуз ЧМ и БМ.

С помощью полученных нами последовательностей генов 18S и 28S рРНК, мы реконструировали филогенетические связи между тремя популяциями медуз из БМ, ЧМ и ЯМ. Несмотря на географическую удалённость БМ и ЧМ, медузы этих популяций образуют единую группу, в то время, как медузы из ЯМ формируют отдельный кластер. Помимо этого, при сравнении кариотипов этих медуз показано, что кариотип медуз БМ и ЧМ представлен 19 ($2n=38$) парами хромосом, а медуз ЯМ – 17 ($2n=34$) парами. Полученные результаты подкрепляются другими данными о молекулярной филогении рода *Aurelia* (Dawson, Jacobs, 2001). Эти исследования выявили существование множества криптовидов *A. aurita*, в ряду которых медузы из ЯМ выделились в криптовид *A. sp.1*, в то время как медузы из БМ и ЧМ оказались принадлежащими одной группе - *A. aurita*. Полученные результаты свидетельствуют о существовании 2-х видов *Aurelia*: обитающего в БМ и ЧМ, *Aurelia aurita* и *A.sp.1* ЯМ.

ВЫБОР СТАРТОВОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНОГО ЗАМЕЩЕНИЯ В УСЛОВИЯХ СОВЕРШЕННОГО ТВИННИНГА КРИСТАЛЛА

Кравченко О.В., Никонов О.С., Никонов С.В.

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

kravchenko.olesya@gmail.com

Твиннингованные кристаллы - это некие агрегаты, в которых различные домены соединяются вместе в соответствии со специфическим оператором симметрии: законом твиннинга. Для макромолекул характерен гемиздрический твиннинг, частный случай мероздрического, когда индивидуальные твиннингованные домены принимают только две отдельные ориентации. Самым сложным видом твиннинга является совершенный твиннинг. В этом случае доля объема кристалла, занимаемая доменами во второй ориентации равна 0,5. В настоящее время работа с совершеннотвиннингованными кристаллами макромолекул практически никем не ведется из-за сложности такой задачи.

Недавно нами была определена с разрешением 2,5А пространственная структура гамма-субъединицы гетеротримерного фактора инициации трансляции 2 из археи *Sulfolobus solfataricus*. Структура решена методом молекулярного замещения. Стартовая модель на данном этапе выбрана эмпирически. Структура достоверна ($R_{work}=23,4\%$, $R_{free}=25,7\%$), демонстрирует хорошую геометрию и может быть использована для дальнейших исследований.

Выбор стартовой модели является ключевым для метода молекулярного замещения. Считается, что среднее квадратичное отклонение стартовой структуры от истинной, превышающее 1 А, приводит к значительным затруднениям в поисках правильного решения даже для нетвиннингованных кристаллов. Предел, определяющий пригодность стартовой модели при использовании твиннингованных данных, неизвестен. В настоящее время мы проводим скрининг различных моделей гамма-субъединицы как известных из кристаллографических данных, так и полученных с использованием метода нормальных колебаний на предмет поиска ограничений, определяющих использование данной структуры в качестве стартовой модели в методе молекулярного замещения в условиях совершенного твиннинга.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00571 А.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

Крюков А.А., Жуков В.А., Тихонович И.А.

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

rainniar@rambler.ru

Горох посевной является одной из наиболее ценных для сельского хозяйства бобовых культур, поэтому изучение генетического контроля взаимодействия гороха с полезными почвенными микроорганизмами представляет собой актуальную задачу современной биологии.

В лаборатории генетики растительно-микробных взаимодействий ФГБНУ ВНИИСХМ проводится генетическое картирование ряда симбиотических генов при помощи ген-специфичных молекулярных маркеров. В данной работе гены *Sym5*, *Sym16* и *Sym32* были картированы относительно маркеров с известной локализацией в геноме («якорных маркеров»). Была уточнена позиция гена *Sym5* в I группе сцепления (между маркерами PSU81288 (расстояние между маркером и геном 13,5 сМ) и AS-2 (35,0 сМ)). Ген *Sym16* был картирован относительно маркеров PGD (23,1 сМ) и Rbcs (20,3 сМ) в V группе сцепления. Самый значительный успех был достигнут в картировании гена *Sym32*, который был локализован нами на генетической карте относительно 6 маркеров в диапазоне 1,2 сМ. Фланкирующие *Sym32* ген-специфичные маркеры гомологичны генам Medtr3g079330.1 и Medtr3g080240.1 люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn). Недавно выявленный симбиотический ген люцерны SymCRK (Medtr3g079850.1) расположен именно между указанными генами, и потому рассматривается нами как наиболее вероятный кандидат на роль гомолога *Sym32*. Для проверки этой гипотезы ген, гомологичный SymCRK, будет секвенирован у мутантных линий гороха RisFixO и RisFixL, несущих мутацию в гене *Sym32*, для поиска точечной замены в кодирующей части.

Эта работа, в совокупности с другими похожими, будет использована для дальнейшей работы с симбиотическими генами гороха. Генетическое картирование – это лишь одна из первых ступенек в понимании того, как взаимодействует горох и его симбионты, а также как нам улучшить это взаимодействие.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№13-04-01703_а), гранта Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФ (№14-24-00135).

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ БИОПТАТОВ ЭМБРИОНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛНОГЕНОМНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

Кудина Е.П.

ФГБНУ ВНИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл., Россия

kelenakam@mail.ru

Развитие животноводства в Российской Федерации невозможно без использования современных методов генетики и молекулярной биологии. Использование данных методов в селекционно-племенной работе в скотоводстве позволяет независимо от возраста, пола и физиологического состояния учитывать генетический потенциал животного. ДНК-диагностику животных можно выполнять в самом раннем их возрасте, что существенно повышает эффективность отбора. Новое направление ранней диагностики наследственных заболеваний связано с развитием преимплантационной генетической диагностики (ПГД). Такая диагностика делает возможным проведение генетического обследования не только до рождения особи, но и до наступления беременности – на самых ранних этапах эмбрионального развития с использованием минимального количества генетического материала.

Целью данной работы является разработать методику генотипирования эмбрионов КРС на основе ДНК-анализа.

Исследования проводятся на базе лабораторий молекулярной генетики животных и эмбриологии и биологии воспроизводства животных центра биотехнологии и молекулярной диагностики животных Всероссийского научно-исследовательского института животноводства имени академика Л.К. Эрнста.

Предмет исследований - эмбрионы крупного рогатого скота, полученные *in vitro*.

Процедура ПГД включает в себя два этапа: биопсию клеток эмбрионов и их молекулярно-генетическое исследование (полногеномная амплификация). На первом этапе исследований было выполнено теоретическое моделирование системы, основываясь на результатах ранее проведенных исследований. Также были получены эмбрионы крупного рогатого скота (*in vitro*). И взяты биопсии клеток для дальнейшего исследования. Ведётся определение числа клеток, которое необходимо для амплификации и при этом не нарушающее развитие эмбриона. Проводится разработка метода увеличения объёма ДНК до количества, достаточного для приготовления геномных библиотек.

Далее будет проведена отработка режимов и проведение ДНК диагностики пола с применением полногеномной амплификации.

РОЛЬ В-ЛИМФОЦИТАРНОГО ШАПЕРОНА FCRLA В КОНТРОЛЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В-ЛИМФОЦИТОВ И ПРОДУКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Кузнецова В.В.

ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН,
Новосибирск, Россия

kzlera_slaw@mail.ru

Путь, который проходит активированный В-лимфоцит в процессе своего созревания до плазматической клетки, имеет несколько этапов и контролируется множеством факторов, часть из которых не известна к настоящему дню, и их изучение является одним из основных направлений современной иммунологии.

Белок В-лимфоцитов FCRLA – член недавно открытого семейства FcR-like из суперсемейства иммуноглобулинов. Функция FCRLA, выяснение которой является целью настоящего исследования, неизвестна. На основании данных о клеточной локализации FCRLA, изменении его экспрессии при активации В-клетки и способности связываться с иммуноглобулинами была сформулирована гипотеза о том, что FCRLA принимает участие в регуляции дифференцировки В-лимфоцитов, блокируя секрецию антител на терминальных стадиях их созревания.

Данную гипотезу проверяли в эксперименте по влиянию конститутивной экспрессии FCRLA на дифференцировку клеток и синтез/секрецию иммуноглобулинов (Ig) в первичной культуре наивных В-лимфоцитов мыши, активированных ЛПС. Для этого получили несколько лентивирусных конструкций, экспрессирующих mFCRLA с разных конститутивных промоторов в инфицируемых клетках. Исследовали влияние конститутивной экспрессии FCRLA на различные параметры дифференцировки зараженных полученными вирусами В-лимфоцитов (уровень внутриклеточного и секретируемого IgM и др.). Обнаруженное увеличение количества бластных форм В-клеток в случае конститутивной экспрессии mFCRLA указывают на важную роль этого белка для дифференцировки наивной В-клетки в активированную и далее в плазматическую. Кроме того, установлено достоверное уменьшение секретируемого IgM в культуральных жидкостях в ряду неинфицированные В-клетки – В-клетки, зараженные вирусом без mFCRLA – В-клетки, зараженные вирусом с mFCRLA, что свидетельствует о негативном влиянии FCRLA на процесс секреции иммуноглобулина активированным В-лимфоцитом. Таким образом, полученные результаты подтверждают предполагаемую функцию FCRLA и его участие в регуляции дифференцировки В-клетки.

Работа поддержана грантами РФФИ №13-04-01809 и № 14-04-32364.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДЕСТАБИЛАЗЫ-2 МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ (*HIRUDO MEDICINALIS*) В РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАХ ЭКСПРЕССИИ

Курдюмов А.С., Манувера В.А., Лазарев В.Н.

ФГБУН НИИ физико-химической медицины, Москва; ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия
aleks-kuzmaland@bk.ru

Дестабилаза медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) – первый открытый полифункциональный лизоцим беспозвоночных. Дестабилаза сочетает в себе лизоцимную (мурамидазную), эндо-ε-(γ-Glu)-Lys-изопептидазную и антимикробную активности. Действие этого фермента направлено на расщепление стабилизированного фибрина, что приводит к медленному разрушению старых тромбов. Известно три изоформы данного фермента. На сегодняшний день описано получение дестабилазы-2 только в клетках *Escherichia coli* в нерастворимой форме с последующей ренатурацией. Активность ренатурированного фермента, исходя из литературных данных, была намного ниже, чем у нативного дестабилазного комплекса, поэтому возникло предположение, что ренатурированный белок имеет неверную пространственную структуру. Цель работы была получить изначально растворимую дестабилазу в различных системах экспрессии и сравнить их свойства.

Мы получили дестабилазу-2 в клетках *E.coli*, дрожжах *Pichia pastoris* и культуре клеток человека Expi293. В *E.coli* нам удалось получить растворимую дестабилазу в виде слитого белка с шапероном SlyD, который впоследствии отщепляли специфичной TEV-протеиназой. В культурах *P.pastoris* и клеток человека дестабилаза накапливалась в растворимом виде в культуральной жидкости. Для полученных белков определялись лизоцимная, изопептидазная, антимикробная и фибринолитическая активности. Их сравнение показало, что все растворимые формы рекомбинантной дестабилазы имеют сходную лизоцимную активность и на порядок превосходят по активности дестабилазу, полученную из телец включения. Сходное различие, хотя и не так сильно выраженное наблюдается и для изопептидазной и фибринолитической активности.

Таким образом, была получена дестабилаза-2 в трёх различных системах экспрессии. Нами показано, что лизоцимная активность данного фермента в растворимой форме значительно выше, чем у белка, полученного путем ренатурации из телец включения. Существенного различия в изопептидазной активности растворимой дестабилазы, полученной в *E.coli*, дрожжах и клетках человека, не наблюдается. Ввиду своей способности медленно растворять застарелые тромбы, дестабилаза вызывает интерес в качестве потенциального тромболитического агента.

ИССЛЕДОВАНИЕ НУКЛЕОТИД- И РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ БЕЛКА ROP ИЗ *ESCHERICHIA COLI*

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

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

natalja-lekontseva@rambler.ru

На протяжении всего своего существования в клетках молекулы РНК взаимодействуют с большим количеством РНК-связывающих белков. Эти белки участвуют в процессах транскрипции и трансляции, в транспорте, локализации и маскировании эукариотических мРНК и т.п. Для изучения и понимания процессов, в которых задействованы РНК-связывающие белки, необходимо знать принципы РНК-белкового узнавания и его структурные основы. Объектом нашего исследования стал РНК-организующий белок Rop из *Escherichia coli*.

Repressor of primer (Rop) регулирует репликацию плазмиды ColE1. В отсутствие антисмысловой РНК I, 3' конец некодирующей РНК II образует стабильный комплекс с ДНК, который является праймером для репликации плазмиды. Когда РНК I транскрибируется, она образует с РНК II комплекс по типу «kissing complex», тем самым ингибируя репликацию. Белок Rop в виде димера из 4 α-спиралей связывает и стабилизирует данный комплекс, защищая его от деградации. Несмотря на то, что структура Rop известна и механизм работы данного белка хорошо изучен, структуру РНК-белкового комплекса получить до сих пор не

удалось. Мы предложили использовать отдельные рибонуклеотиды в качестве маркеров сайтов взаимодействия белка Rop с РНК.

Нами получена генетическая конструкция, содержащая полноразмерный белок. Rop выделен с чистотой, пригодной для кристаллизации. В настоящее время ведутся работы по поиску условий кристаллизации белка и его комплексов с рибонуклеотидмонофосфатами.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы "Молекулярная и клеточная биология" Президиума РАН и гранта РФФИ № 13-04-00783-а.

МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ ТЕПЛОВЫМ ШОКОМ ДВУЦЕПОЧЕЧНЫХ РАЗРЫВОВ ДНК

Лужин А.В.^{1,2}, Кантидзе О.Л.¹, Величко А.К.¹

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва;

²ФГБОУ ВПО Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

artyom.luzhin@gmail.com

Известно, что тепловой шок приводит к образованию двуцепочечных разрывов ДНК в клетках млекопитающих. Недавно нами было показано, что тепловой шок приводит к образованию двуцепочечных разрывов ДНК только в G1- и G2-фазах клеточного цикла. Эти разрывы маркируются с помощью АТМ-зависимого фосфорилирования гистона H2AX. Не ясно, однако, каков механизм формирования двуцепочечных разрывов ДНК в условиях теплового стресса. Одним из возможных механизмов образования двуцепочечных разрывов ДНК, индуцированных тепловым шоком, может быть подавление активности ДНК-топоизомеразы II (топо2) - фермента, изменяющего топологию ДНК путем внесения временных двуцепочечных разрывов в ДНК. Мы продемонстрировали, что тепловой шок эффективно ингибирует активность топо2 как *in vitro*, так и *in vivo*. Было также показано, что обработка клеток каталитическим ингибитором топо2 приводит к отмене повреждающих ДНК эффектов теплового шока. С помощью метода преципитации ковалентных комплексов топо2-ДНК было показано, что тепловой шок приводит к образованию двуцепочечных разрывов ДНК путем специфического ингибирования одной из изоформ топо2 - ДНК-топоизомеразы IIβ. Таким образом, в этой работе был определен механизм образования индуцированных тепловым шоком двуцепочечных разрывов ДНК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-34-50012.

ДЕТЕКЦИЯ АКТИВНЫХ ПРОМОТОРОВ СРЕДИ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОМНЫХ БИБЛИОТЕК

**Любимова К.А.¹, Дидыч Д.А.², Котова Е.С.², Акопов С.Б.², Николаев Л.Г.²,
Свердлов Е.Д.²**

¹ФГБОУ ВО МГУ им. М. В. Ломоносова, ²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

lubimowa.cristina@yandex.ru

Промоторы представляют собой класс регуляторных элементов генома, обеспечивающих инициацию транскрипции всех генов. Взаимодействие промотора с другими регуляторными элементами генома и различными белками-регуляторами определяет уровень и клеточную специфичность экспрессии генов.

В настоящий момент разработано множество структурных подходов, позволяющих картировать промоторные области на уровне генома, однако ни один из них не позволяет предсказывать функциональные свойства промоторов вне их геномного окружения, включая функционально-значимые границы промоторов, их активность и клеточную специфичность, что особенно важно при создании искусственных систем экспрессии генов.

В данной работе мы показали возможность применения технологии быстрой амплификации 5'-концов кДНК (5'-RACE) и массивного параллельного функционального анализа для детекции активных промоторов среди фрагментов геномных библиотек.

В работе нами была получена библиотека фрагментов локуса длиной 45 т.п.н., расположенного на хромосоме 19 человека. ДНК локуса фрагментировали ультразвуком для получения фрагментов со средней длиной 750 п.н. Фрагменты клонировали в сконструированный нами плазмидный вектор между двумя репортерными генами зеленого и красного флуоресцентных белков, расположенных «голова-к-голове». Из полученной клонотеки был выделен пул плазмид, содержащий 50 тыс. фрагментов локуса (800-кратное перекрывание), которым трансфицировали клетки линии А-431 (эпидермоидная карцинома). Если вставленные в плазмиду фрагменты библиотеки проявляют промоторную активность и инициация транскрипции происходит внутри этих фрагментов, то в трансфицированных клетках будут накапливаться транскрипты репортерных генов, содержащие на 5'-концах последовательности концевых участков таких фрагментов библиотеки. Поэтому секвенирование 5'-концов транскриптов репортерных генов, выделенных из трансфицированных клеток, позволяет определить локализацию в геноме промоторов, активных в данном типе клеток. Из трансфицированных клеток нами была выделена тотальная фракция полиаденилированной мРНК и проведен RACE-анализ 5'-концов транскриптов с использованием праймеров к репортерным генам. Анализ 8 клонов позволил выявить три фрагмента библиотеки, перекрывающихся с промоторной областью гена LIN37. В дальнейшем для получения исчерпывающих функциональных карт промоторов, активных в разных линиях клеток человека, нами планируется использовать массивное секвенирование.

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАБОТЫ КОАКТИВАТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ПРОЦЕССЕ АКТИВАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Мазина М.Ю., Воробьева Н.Е.

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

magadovam@yandex.ru

По современным представлениям процесс реализации генетической информации у многоклеточных организмов является одним из самых сложных молекулярных процессов, протекающих в клетке. Наиболее важными стадиями, на которых происходит основная регуляция данного процесса, являются инициация, а также ранние этапы элонгации транскрипции. Для протекания процесса транскрипции в живой клетке необходимо согласованное функционирование многих коактиваторных комплексов. Коактиваторы привлекаются на промоторы генов ДНК-связывающими белками-активаторами и являются основными клеточными мишенями для действия регуляторов транскрипции. К настоящему моменту накоплен большой запас знаний, относительно функций отдельных коактиваторных комплексов и их субъединиц. Одной из самых существенных задач, стоящих перед современной молекулярной биологией гена является объединение полученных знаний в единую теорию, которая бы позволила построить общую модель пространственного и временного взаимодействия коактиваторных комплексов в процессе транскрипции. Результатом решения данной проблемы должно стать составление общей модели, описывающей механизм работы коактиваторов на усредненном варианте гена, которая в дальнейшем будет использована для характеристики транскрипционных процессов на конкретных генах. Ранее мы показали, что разные типы коактиваторных комплексов работают согласованно при активации транскрипции гена. Также нами было обнаружено, что отдельные коактиваторные комплексы способны выполнять разные функции в процессе активации транскрипции одного гена. Целью настоящей работы является создание модели, описывающей работу коактиваторных комплексов в процессе активированной транскрипции генов развития *Drosophila melanogaster*. Основной задачей будет создание первичной схемы, описывающей поведение основных коактиваторных комплексов при активации конкретного гена. Для каждого коактиваторного комплекса будут исследованы процессы привлечения и удаления с гена, а также изучены взаимосвязь его работы с другими коактиваторами. В данном проекте также планируется изучить возможность использования полученной модели для описания процесса активации транскрипции других типов генов *Drosophila melanogaster*. Для решения последней задачи будут использованы современные полногеномные методы исследования.

Описание подобной системы, объединяющей работу большого количества коактиваторных комплексов, позволит в дальнейшем проводить более конкретные исследования отдельных белковых комплексов или этапов активации транскрипции в контексте имеющихся данных о предыдущих или последующих этапах.

МАЛАЯ РНК SAPZ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РЕГУЛЯТОР ПУЛА мРНК ГЕНОВ *rpoS*, *malK* И *malM* В *E. COLI*

Маркелова Н.Ю., Сухаричева Н.А., Озолин О.Н., Масулис И.С.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

sacharunya@gmail.ru

Жизнедеятельность гетеротрофных бактерии обеспечивается способностью эффективно реагировать на условия окружающей среды. *E. coli* обладает сложной сетью регуляторных механизмов, которые способны преобразовывать различные внешние стимулы в изменения профиля экспрессии генов. Многоуровневая система регуляции клеточных ответов позволяет бактериям противостоять стрессам и эффективно использовать имеющийся материал и энергию.

В настоящее время установлены разнообразные РНК-опосредованные механизмы регуляции экспрессии генов, где ключевую роль выполняют малые РНК. Нами была обнаружена и описана с точки зрения локализации промотора и терминатора некодирующая РНК *SapZ*, транскрибируемая в локусе *ymjA/sapA* в направлении, антисмысловом по отношению к гену *sapA*.

Для выяснения функций данной РНК получен мутантный штамм *E. coli* K-12 MG 1655 несущий делецию области генома, кодирующей РНК *SAPZ*. Потенциальные мишени были проанализированы с помощью программы «sTarPicker». На основании этого анализа для экспериментальной проверки были отобраны три предполагаемые мишени воздействия РНК *SapZ*: ген *rpoS*, кодирующий фактор σ^{38} и являющейся центральным регулятором общей реакции на стресс, а также два гена мальтозного оперона, *malK* и *malM*, продуктами которых являются белок, входящий в состав АВС-транспортера и периплазматический белок с неустановленной функцией.

На участие РНК *SAPZ* в регуляции пула мРНК генов-мишеней указывают данные по содержанию мРНК генов *rpoS*, *malK* и *malM* в препаратах тотальной РНК, полученные методом RT-qPCR. Установлено, что в клетках кишечной палочки несущих делецию по РНК *SapZ*, на экспоненциальной фазе роста уровень мРНК гена *malK* был выше в 2,3 раза, а гена *malM* в 13,6 раз, чем в клетках дикого типа. На стационарной фазе роста было обнаружено аналогичное увеличение уровня транскриптов генов *malK* и *malM* в шесть и три раза соответственно. На этой стадии роста клеток обнаружена корреляция уровня мРНК для *rpoS* и исследуемых генов мальтозного оперона, так как для транскриптов гена *rpoS* в мутантном штамме наблюдается увеличение 2.6 раза по сравнению со штаммом дикого типа.

Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности малой РНК *SapZ* в регуляцию экспрессии генов *rpoS*, *malK* и *malM*. Очевидно, что делеция *SapZ* приводит к повышению содержания мРНК значимых для клетки генов. Регуляторные эффекты РНК *SapZ* могут реализовываться как на уровне транскрипции изучаемых генов, так и посредством воздействия на стабильность транскриптов *rpoS*, *malK* и *malM*.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России № 2014/28.

ПОИСК САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ С ДНК РЕГУЛЯТОРНОГО БЕЛКА СИСТЕМЫ КВОРУМА *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*

Миронычева А.А.¹, Шлыкова Л.В.², Гоголева Н.Е.², Гоголев Ю.В.²

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

mironichewa@yandex.ru

Система кворум сенсинга является одной из самых распространенных регуляторных систем бактерий. Ключевым компонентом этой системы выступают сенсорно-регуляторные белки R-семейства. R-белки проявляют ДНК-связывающие свойства в присутствии или отсутствии молекул аутоиндукторов *N*-ацил гомосеринлактонов. Поиск сайтов связывания этих белков на ДНК, так называемых lux-боксов, представляет интерес как для изучения механизмов регуляции системы кворума, так и общих принципов регуляции активности кворум-зависимых генов у бактерий.

Объектом нашего исследования является система *expI/expR* фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043. Ген *expR* кодирует регуляторный ДНК-связывающий белок ExpR, объединяемый по ряду характеристик в одну монофилетическую группу с аналогичными белками бактерий *Pectobacterium carotovorum*, *Pantoea stewartii*, *Erwinia chrysanthemi* (Tsai, Winans, 2010). Нами был проведен биоинформатический поиск сайтов связывания ExpR-белка в промоторных областях генов *expI* и *expR*. Для этого использовался алгоритм множественного выравнивания. В результате, в промоторной области гена *expR* удалось выделить высоко консервативные участки, один из которых обладает высокой гомологией с известными последовательностями lux-боксов и характерной для lux-боксов палиндромной структурой и длиной 20 п.н. Обнаруженный нами lux-бокс имеет область перекрытия с сайтом -10 промоторной области. Из этого можно сделать вывод об авторепрессорном механизме регуляции транскрипции гена *expR*. Проводится работа над экспериментальным подтверждением полученных результатов с использованием рекомбинантного белка ExpR и синтетических последовательностей обнаруженного lux-бокса.

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ БАКТЕРИЙ *BACILLUS PUMILUS* 3-19

Митрофанова О.С., Тойменцева А.А., Шарипова М.Р.

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

mitrofaolga@gmail.com

Бактерии рода *Bacillus pumilus* известны как продуценты ценных ферментов, антибиотиков и витаминов. Широкое разнообразие протеолитических ферментов, синтезируемых представителями данного рода, имеет важный биотехнологический потенциал, что указывает на необходимость получения высокоэффективных продуцентов этих ферментов. Известно, что близкородственные виды могут сильно отличаться друг от друга на уровне секреции протеолитических ферментов. Различия в экспрессии генов протеаз помогают бациллам быстро и эффективно приспосабливаться к разным условиям окружающей среды. Экспрессия гена контролируется на уровне транскрипции, где основным рабочим элементом является промотор гена. В зависимости от структуры и длины промотора генная экспрессия может значительно отличаться.

Объектом исследования являются протеолитические ферменты – субтилизиноподобная протеиназа (*AprVp*), глутамилэндонептидаза (*GseVp*) и металлопротеиназа (*MprVp*), продуцируемые грамположительной бактерией *Bacillus pumilus* 3-19. Был проведен биоинформационный анализ промоторов генов протеаз *B. pumilus* 3-19 и сконструированы репортерные фьюжен конструкции, содержащие промоторы протеолитических генов. Для анализа транскрипции генов *aprVp*, *gseVp*, *mprVp* были выбраны вектора pAC6 и pGFPamyE, содержащие репортерные гены *lacZ* и *gfp*, соответственно. Амплифицированные промоторные области гена *aprVp* длиной 445, 360, 300, 270, 240, 200, 150, 100, 50 п.о. и гена *gseVp* длиной 200, 150, 100, 50 п.о. клонировали в вектор pAC6, а промоторы гена *mprVp* длиной 256, 200, 150 п.о. в вектор pGFPamyE. Полученные транскрипционные фьюжен конструкции секвенировали

и трансформировали в клетки *B. subtilis* 168. Далее изучали уровень ферментативной активности β -галактозидазы и зеленого флуоресцентного белка. В результате исследования экспрессии гена *lacZ* под контролем промоторов P_{aprBp} , P_{gseBp} обнаружено, что активность фермента β -галактозидазы начиналась в фазе замедления роста (4-5 часы), тогда как уровень экспрессии гена *gfp* под контролем промотора P_{mprBp} был минимальным.

Предварительные данные показали, что для полноценной экспрессии изучаемых генов промотор P_{aprBp} должен составлять не менее 300 п.о., а промотор P_{gseBp} – 150 п.о. Количественно экспрессию репортерных генов определяли методом выделения тотальной РНК из рекомбинантных клеток, получением кДНК и постановкой ПЦР в реальном времени. Полученные результаты о зависимости экспрессии генов от длины их регуляторной области будут использованы для получения рекомбинантных высокоэффективных штаммов – продуцентов практически значимых протеиназ.

КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛНОРАЗМЕРНОГО АРХЕЙНОГО РИБОСОМНОГО БЕЛКА L11

Митрошин И.В., Габдулхаков А.Г., Гарбер М.Б.
ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

ivan-mitroshin@rambler.ru

Рибосомы всех организмов содержат высокоподвижный морфологический элемент, называемый L12-выступом в бактериях и P-выступом в археях и эукариотах. Этот боковой выступ вместе с сарцин-рициновой петлей формируют «ГТФазу-связывающий центр» рибосомы. Боковой выступ участвует в специфичном взаимодействии рибосомы с факторами трансляции и доставляет факторы в ГТФазу-связывающий центр. Этот выступ образован комплексом белков L10-L12 и белком L11, которые взаимодействуют со спиралями H42-44 23S рРНК (обозначения в бактериях).

Рибосомный белок L11 образует основание выступа и является одним из наиболее консервативных рибосомных белков. Он состоит из двух доменов, соединенных короткой перетяжкой. С помощью С-концевого домена белок L11 взаимодействует с 58 нуклеотидным фрагментом 23S рРНК. N-концевой домен ответственен за связывание с факторами элонгации и терминации и стимулирование фактор-зависимого гидролиза ГТФ на рибосоме. Анализ структур бактериальной рибосомы с различными факторами трансляции и структуры бактериального белка L11 в изолированном состоянии показал, что положение N-концевого домена L11 изменяется в зависимости от трансляционного цикла рибосомы. Комплекс L11-рРНК является мишенью для действия антибиотиков тиазольного класса. При связывании тиострептона с этим комплексом происходит фиксация N-концевого домена L11 в определенном положении, что приводит к снижению гидролиза ГТФ и доступа факторов к рибосоме.

Целью наших исследований является исследование структуры рибосомных белков P-выступа из археи *Methanococcus jannaschii*. В рамках данной работы был выделен и очищен рибосомный белок L11. Был проведен поиск условий кристаллизации и получены кристаллы белка L11. Для решения проблемы фаз в рентгеноструктурном анализе было получено селенометиониновое производное белка L11. Модифицированная форма белка также была закристаллизована. Были сняты наборы дифракционных данных от кристаллов немодифицированного белка L11 с разрешением 2,2 Å, от кристаллов модифицированного белка L11 – с разрешением 3,0 Å. В настоящее время ведется работа по определению пространственной структуры рибосомного белка L11 из *M. jannaschii*.

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

ПОЛУЧЕНИЕ SmAP2 БЕЛКОВ ИЗ *METHANOCOCCUS VANNIELII* И *SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS*

Михайлина А.О., Леконцева Н.В., Никонова Е.Ю., Тищенко С.В., Никулин А.Д.
ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

alisamikhaylina15@gmail.com

Белки семейства Lsm (Sm-like proteins) имеют представителей во всех трех доменах жизни: бактериях, археях и эукариотах. Они структурно консервативны, имеют одинаковую укладку вторичной структуры, однако функции Lsm белков различаются. Бактериальные Lsm белки (Hfq) являются глобальными регуляторами транскрипции и РНК-шаперонами, способствующими функционированию малых регуляторных РНК. Эукариотические Lsm белки выполняют, в основном, роль каркасных белков, входя в состав сплайсосом и теломераз, они также участвуют в декэпировании мРНК. В археях отсутствует система процессинга РНК подобная эукариотической, структурная организация SmAP белков ближе к бактериальным аналогам. Предполагается, что эти белки участвуют в регуляции экспрессии генов в археях, однако прямые доказательства этого практически отсутствуют. Целью наших исследований являются структурно-функциональные исследования архейных РНК-связывающих Sm-подобных белков SmAP и определение их роли в регуляции экспрессии генов.

В геномах архей имеются SmAP1 и SmAP2 гены, кодирующие соответствующие Lsm белки. Белки семейства SmAP1 гомологичны бактериальным белкам Hfq, а белки семейства SmAP2 ближе к эукариотическим Lsm белкам.

В соответствии с известными нуклеотидными последовательностями генов SmAP2 из *Methanococcus vannielii* и *Sulfolobus acidocaldarius* были синтезированы олигонуклеотиды-праймеры и на основе экспрессионного вектора pET-11a получены генетические конструкции, несущие гены соответствующих белков. В качестве матрицы для получения генов белков SmAP2 *M. vannielii* (MvaSmAP2) и SmAP2 *S. acidocaldarius* (SaciSmAP2) использована геномная ДНК соответствующих архей. Штамм-суперпродуцент был получен с использованием системы Штудиера. В настоящее время выделен препарат белка MvaSmAP2 с применением методов дробного высаливания сульфатом аммония и гидрофобной хроматографии, ведётся поиск условий выделения белка SaciSmAP2.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда ПОДДЕРЖКА И РАЗВИТИЕ (грант № 14-14-00496).

РОЛЬ КЛЕТОЧНОГО ФЕРМЕНТА ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3- ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПЕРЕНОСЕ ПОЛИГЛУТАМИНОВЫХ ПАТОЛОГИЙ

Михайлова Е.Р.¹, Лазарев В.Ф.¹, Никотина А.Д.^{1,2}, Маргулмс Б.А.¹, Гужова И.В.¹

¹ФГБУН Институт цитологии РАН, ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский
государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

mikhailovaer@yandex.ru

Большинство нейродегенеративных заболеваний связано с появлением цитотоксических олигомеров и агрегатов мутантных белков, вызывающих дисфункцию и гибель клеток мозга. Болезнь Хантингтона обязана наличию мутации в гене белка хантингтина, что приводит к появлению аномально длинной полиглютаминовой последовательности в N-терминальном домене молекулы и агрегации. В наших предыдущих работах мы показали, что клеточный фермент ГАФДГ (глицеро-фосфат-3 гидрогеназа) значительно усиливает процесс агрегации мутантохантингтина.

Очаг болезни Хантингтона – шипиковые нейроны стриатума, но с течением времени агрегаты появляются в других регионах мозга. В последние годы обнаружено явление горизонтального, прион-подобного переноса патологии, которое заключается в миграции патогенных или мутантных белков между клетками мозга.

Целью нашей работы было установить роль ГАФДГ в межклеточном переносе мутантохантингтина.

В модельных клетках нейробластомы крысы PC-12HttQ103, несущих индуцибельную генетическую конструкцию, включающую ген 1го экзонахантингтина и зеленого флуоресцентного белка, экспрессию патогенного белка вызывали добавлением в среду PonasteroneA (PA). В этих клетках наблюдали рост агрегатов мутантногохантингтина. Анализ кондиционированной среды с помощью метода ультрафильтрации показал, что агрегаты, оказавшиеся в среде, содержат мутантный хантингтин и ГАФДГ.

С помощью метода конфокальной микроскопии мы показали, что в клетках SK-N-SH, трансфецированных геном, кодирующим короткий, непатогенный фрагмент хантингтинаQ25, при инкубации с Q58 в комплексе с ГАФДГ происходило образование агрегатов, в то время как при инкубации с чистым Q58 агрегация в период наблюдения не происходила.

Чтобы понять, какую роль может играть ГАФДГ в способности Q58 проникать в клетки мы использовали метод CellELISA и убедились, что ГАФДГ многократно усиливает способность патогена проникать в клетки. С помощью ингибиторного анализа с применением ингибиторов внутриклеточного транспорта, мы показали, что ГАФДГ, как сам, так и в комплексе с Q58, проникает в клетки-акцепторы с помощью клатрин-зависимого эндоцитоза, в то время как вхождение Q58 было лишь незначительно подавлено при применении хлорпромазина, ингибитора рецептор-зависимогоэндоцитоза.

Полученные данные позволяют предположить, что фермент гликолиза ГАФДГ, транспортирует мутантныйхантингтинв клетки и способствует прионизированию нормальных клеточных белков клетки-акцептора.

МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНУЮ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ БЕЛКА Hfq

**Мурина В.Н., Леконцева Н.В., Мельник Б.С., Филимонов В.В., Марченков В.В.,
Гарбер М.Б., Никонов С.В., Никулин А.Д.**
ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

thyrada@rambler.ru

Объектом нашего исследования является белок Hfq из мезофильной бактерии *Pseudomonas aeruginosa*. Этот белок активно исследуется, поскольку большинство малых регуляторных РНК в грамтрицательных бактериях осуществляет свои функции при его участии. Было показано, что белок Hfq принимает участие в ответе на клеточные стрессы (радиация, окислительный стресс, сахаро-фосфатное голодание, понижение и повышение температуры и другие), влияет на вирулентность бактерий, формирование биопленок, регуляцию обмена железа в клетке, и в целом является глобальным регулятором экспрессии бактериальных генов.

Помимо широкого спектра функций, которые он выполняет в клетке, Hfq является экстремально термостабильным белком ($T_{пл.} = 120^{\circ}\text{C}$). Мы исследовали стабильность белка дикого типа и ряда мутантных белков с помощью КД, ДСК и флуоресценции. Нами было показано, что процесс плавления белка сложный, состоит как минимум из двух этапов, которые, по всей видимости, заключаются в диссоциации гексамера до мономеров и последующего плавления мономеров. Оба этапа удалось зафиксировать при исследовании белка РаеHfq с заменой Y55W (внесена триптофановая метка в область межмономерных контактов; его флуоресценция чувствительна к диссоциации гексамера). Процесс разворачивания белка гуанидин гидрохлоридом детектировалось по изменению спектров КД, а диссоциация гексамеров – по изменению флуоресценции. Сравнение графиков этих процессов показало, что S-образная кривая изменения флуоресценции заканчивается раньше, чем начинается кривая изменения КД. Это подтверждает гипотезу о двухэтапном плавлении белка.

Полученные результаты по исследованию белка Hfq из *Pseudomonas aeruginosa* могут быть использованы для повышения стабильности архейных и эукариотических белков его семейства (Sm/Sm-подобных белков).

Работа выполнена при финансовой поддержке программы "Молекулярная и клеточная биология" Президиума РАН и гранта РФФИ № 14-04-31215.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS PUMILUS* НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИТОХОНДРИЙ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Муртазина Р.Р., Закирова Я.Н., Зеленихин П.В.

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

murtazinarr@gmail.com

Одна из основных задач современной онкологии – расширение спектра доступных противоопухолевых средств, что обусловлено многообразием типов злокачественных новообразований и способностью раковых клеток приобретать устойчивость к средствам химиотерапии. В качестве перспективных противоопухолевых агентов привлекают внимание рибонуклеазы (РНКазы), такие как секретлируемая гуанилспецифичная РНКаза *B. pumilus* – биназа, которая обладает селективным цитотоксическим действием на раковые клетки.

Целью нашего исследования явилась характеристика влияния биназы на мембранный потенциал митохондрий злокачественных клеток.

В эксперименте использовали клеточные линии солидных опухолей - карциномы легких человека (A549) и аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека (HuTu80). Клеточные линии A549 и HuTu80 культивировали на средах RPMI-1640 и DMEM соответственно с добавлением 10% сыворотки, глутамина, по 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина в атмосфере 5% CO₂. По достижении монослоем клеток 60% конfluence заменяли среду в лунках на свежую с добавлением биназы в концентрациях 100 мкг/мл и 300 мкг/мл. Изменения мембранного митохондрий опухолевых клеток определяли на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II после культивирования клеток в течение 24 часов в присутствии фермента и последующего окрашивания с помощью флуоресцентного красителя DiOC₆.

При культивации клеток HuTu80 с ферментом снижение мембранного потенциала митохондрий наблюдали у 19,6±2,2% и 41,7±9,9% клеток для концентраций 100 мкг/мл и 300 мкг/мл, соответственно. В контрольном варианте без обработки ферментом доля клеток с низким митохондриальным потенциалом не превышало 12,9±3,2%.

Доля клеток линии A549, обладавших низким мембранным потенциалом митохондрий повышалась в присутствии биназы лишь на 8,5±2,8% и 10,3±3,2%, для концентраций РНКазы 100 мкг/мл и 300 мкг/мл, соответственно, в то время как в варианте без обработки РНКазой низкий митохондриальный потенциал был характерен 7,3±1,7% клеток.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о способности биназы индуцировать достоверное снижение мембранного потенциала митохондрий клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки HuTu80. У клетки карциномы легких A549 значимого снижения мембранного потенциала митохондрий под действием биназы не наблюдалось во всем диапазоне исследованных концентраций.

ПОЛУЧЕНИЕ ОЧИЩЕННОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА МЕТОДАМИ ИОНООБМЕННОЙ И АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Мусахметов А.С., Ургалиев Ж.Ш., Хасенов Б.Б.

Национальный центр биотехнологии. Астана, Казахстан

Интерферон-гамма (IFN- γ) является единственным представителем интерферонов II типа. Данный плейотропный цитокин имеет как противовирусный, так и антипролиферативный эффект. Основным клеточным продуцентом IFN- γ в организме человека являются натуральные киллеры и натуральные Т киллеры. Интерферон гамма играет ключевую роль во врожденном и приобретенном иммунитете при вирусной и внутриклеточной бактериальной инфекции.

В данной работе была проведена сборка полномерного гена человеческого IFN- γ de novo методом полимеразной цепной реакции. Синтезированный ген был клонирован в составе экспрессионного вектора pET28c(+) (Novagen). Экспрессия гена была оптимизирована в экспрессионном штамме *E.coli* Rosetta2(DE3) (Novagen). Накопление рекомбинантного белка наблюдалась при концентрации изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозида в среде 0,05 мМ в виде телец включения.

С одного литра культуры после 16 часов индукции было собрано 2,7 грамм мокрых клеток. Лизис клеток проводился методом ультразвуковой гомогенизации. Выделение рекомбинантного IFN- γ из телец включения проводилось с использованием буферов, содержащие неионный детергент Triton X-100 и 250 мМ сахарозу. Для растворения промытого таким образом осадка использовался буфер, содержащий 8 М мочевины в качестве хаотропного агента.

Очистка растворенного белка IFN- γ проводили комбинацией анионно-катионно обменной хроматографии с использованием Q и SP сефарозы и метало-аффинной хроматографии на ионах никеля. Рефолдинг белка проводился путем восьмикратного растворения конечного элюата в фосфатном буфере с этилендиаминтетрауксусной кислотой при pH 7,0. После диализа в натрий-фосфатном буфере, был получен очищенный рекомбинантный белок IFN- γ в 57 мг и чистотой 98%.

КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА САХАРОЗО-6-ФОСФАТ ГЛИКОЗИЛАЗЫ ИЗ *BACILLUS MOJAVENSIS* В ВЕКТОР PGP382

Мухаметзянова С.Р.¹, Холявка М.Г.², Каюмов А.Р.¹

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

²ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

smukhametzyanova@gmail.ru

Ферментативный процесс гидролиза сахаров предпочтительнее химического гидролиза, так как позволяет избежать образования побочных продуктов и окрашенных соединений. Большинство гликозидгидролаз, применяемых в пищевой промышленности (инулиназа, инвертаза, леваназа) получают из бактерий, дрожжей и микромицетов. В настоящее время используются иммобилизованные инвертазы из различных дрожжей и грибов *Aspergillus*. Бациллярные ферменты имеют большие преимущества перед ферментами других бактерий благодаря большей термостабильности и активности.

Особенностью бациллярных ферментов является оптимальный pH в значениях 7.0 и выше, тогда как многие описанные к настоящему времени гликозидгидролазы, например, из *Aspergillus*, *Penicillium*, *Arthrobacter*, имеют оптимальный pH в диапазоне 4.0-5.5. Поэтому бациллярные гликозидгидролазы, способные катализировать отщепление фруктозы в нейтральных и слабощелочных условиях представляют как фундаментальный интерес с точки зрения механизма катализа, отличающегося от детально исследованных реакций в кислой среде, так и практический интерес для пищевой промышленности, так как не требуют закисления субстрата. Среди представителей рода *Bacillus* с высокой сахарозной активностью, доступных в Российских банках, единственным является *Bacillus mojavensis* B-5035. Поэтому данный вид был выбран в качестве донора гена для клонирования.

Анализ генома *Bacillus mojavensis* B-5035 позволил выявить 2 гена, включающие фруктозидазный домен и имеющие около 40-56% гомологии с экзоинулиназой *Aspergillus niger* и инвертазой (бета-фруктозидазой) *Saccharomyces cerevisiae*. В этих генах идентифицируются характерные консервативные последовательности WMN(D/E)PN; RDP и EC(P), что позволяет ожидать наличие гликозидгидролазной активности. Ген потенциальной сахарозо-6-фосфат гликозилазы (SPH) клонирован в экспрессионный вектор pGP382, обеспечивающий экспрессию белка с С-концевым стреп-тагом в клетках *B.subtilis*. Получен рекомбинантный штамм для продукции рекомбинантного белка SPH-ST, начаты работы по оптимизации условий очистки белка.

ПРОТЕОМНЫЕ СКРИНИНГИ АМИЛОИД-ФОРМИРУЮЩИХ БЕЛКОВ У ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ

Нижников А.А., Антоненц К.С., Рыжова Т.А., Галкин А.П.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

a.nizhnikov@spbu.ru

Амилоидами называют фибриллярные белковые агрегаты, обладающие кросс-бета структурой. Специфической подгруппой являются прионы, представляющие собой амилоиды, обладающие инфекционными свойствами. В настоящее время амилоиды крайне активно изучаются не только из-за того, что они ассоциированы с более чем сорока летальными заболеваниями человека, но и поскольку накапливается все больше свидетельств в пользу их важной функциональной роли. Одной из центральных проблем в области биологии амилоидов является отсутствие универсальных методов для их идентификации. Именно поэтому описание каждого нового амилоида является заметным событием в научном мире. Нами разработан инновационный метод протеомного скрининга амилоидогенных белков PSIA (Proteomic Screening for Identification of Amyloids), который основан на тщательной очистке амилоидных белков и их разделении с последующей масс-спектрометрической идентификацией. При помощи этого метода проведены протеомные скрининги амилоидогенных белков у бактерии *Escherichia coli* и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Выявлен ряд белков, формирующих высокомолекулярные детергент-устойчивые агрегаты, среди которых дрожжевые вакуолярные аминопептидазы *Are1* и *Are4*, белок дрожжевой клеточной стенки *Gas1*, а также несколько бактериальных токсинов, в том числе, колицины *Cfa* и *E3*. Полученные данные показывают, что спектр амилоидов, которые присутствуют в клетке в физиологических условиях, может быть существенно шире, чем предполагалось до сих пор, что является важным свидетельством в пользу функциональной значимости амилоидов. Метод PSIA открывает широкие перспективы для протеомных скринингов амилоидогенных белков у различных организмов, от бактерий до человека. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ № МК-4854.2015.4.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ GBA АССОЦИИРОВАННОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

**Николаев М.А.^{1,2}, Нужный Е.П.³, Емельянов А.К.^{1,3,2}, Усенко Т.С.^{1,3},
Якимовский А.Ф.³, Захарова Е.Ю.⁴, Пчелина С.Н.^{1,3,2}**

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ
«Курчатовский институт», ²ФГБУ ВПОИН Санкт-Петербургский академический
университет – научно-образовательный центр нанотехнологий РАН, ³ФГБОУ ВПО
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.
академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург; ⁴ФГБНУ Медико-генетический научный
центр, Москва, Россия

Almaflex@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ: Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее заболевание, связанное с агрегацией нейронального белка альфа-синуклеина и развитием нейродегенерации. Мутации в гене *GBA* – фактор высокого риска развития БП. Мы предположили, что высокий риск развития БП при наличии мутаций в гене *GBA* может быть связан с накоплением нейротоксичных форм альфа-синуклеина.

ЦЕЛЬ: Цель данного исследования заключалась в скрининге мутаций в гене *GBA* среди пациентов с БП и в контрольной группе и оценке уровня олигомерного альфа-синуклеина в плазме пациентов с мутациями в гене *GBA* в гомозиготном состоянии (пациенты с болезнью Гоше).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ: В исследование вошло 330 пациентов, с БП (61,6±9,4 лет, 48,6% мужчин) и 250 индивидуумов контрольной группы (62,7±10,3 лет, 49,8% мужчин),

соответствующих по полу и возрасту ($p > 0,05$). Был осуществлен скрининг мутаций в гене *GBA* (N370S и L444P) методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом. Плазму крови получали из цельной венозной крови путем центрифугирования (20 мин, 3000 г.). Исследование олигомерного альфа-синуклеина в плазме крови было проведено методом ИФА с использованием набора Human Synuclein OLIGO kit (aj Roboscreen, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ: Нами выявлено 9 носителей мутаций среди пациентов с БП (6 - L444P и 3 - N370S) и 1 носитель мутации L444P в контрольной группе. OR развития БП для носителей мутаций L444P и N370S составил 6,7 (1,05-42,4 для 95%-го доверительного интервала (ДИ), $p = 0,04$). У пациентов с болезнью Гоше было обнаружено достоверное повышение уровня олигомерного альфа-синуклеина по сравнению с контрольной группой ($p = 0,0001$).

ВЫВОДЫ: Полученные данные позволяют предположить, что мутации в гене *GBA*, являющиеся фактором высокого риска развития БП, могут приводить к увеличению уровня олигомерных форм альфа-синуклеина в плазме крови.

*Исследование поддержано грантами РФФИ №13-04-01510; №14- 04-31665.

ЦИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ, ВЛИЯЮЩИХ НА АГРЕГАЦИЮ ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Никитина А.Д.^{1,2}, Лазарев В.Ф.¹, Гужова И.В.¹, Маргулис Б.А.¹

¹ФГБУН Институт цитологии РАН, ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

soko.left@gmail.com

Наибольшее разрушительное действие активные формы кислорода оказывают на нервную систему из-за невозможности восстановления погибших нейронов. Окислительный стресс лежит в основе многих нейродегенеративных заболеваний, а также сопровождает воспалительные процессы и различные травмы мозга. Подробное изучение молекулярных механизмов воздействия активных форм кислорода на клетку позволит найти мишени для терапевтического вмешательства. По литературным данным фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФДГ) является сенсором окислительного стресса. Данный фермент относится к классу оксидоредуктаз и в своей нативной конформации имеет тетрамерную структуру. Окисление ГАФДГ приводит к денатурации белка до мономеров и димеров, которые впоследствии могут образовывать агрегаты, транслоцироваться в ядро с помощью E3-убиквитинлигазы Siah1 и участвовать в процессе апоптоза. Мы предположили, что использование малых молекул, способных связываться с ГАФДГ, может стабилизировать фермент, предотвратить агрегатообразование и взаимодействие с Siah-1, тем самым увеличивая выживаемость клеток.

Целью нашей работы был скрининг коллекции веществ растительного происхождения способных влиять на агрегацию ГАФДГ и индукцию апоптоза при окислительном стрессе.

Окислительный стресс моделировали с помощью введения 3mM перекиси водорода, в культуру клеток нейробластомы человека и введением малоната натрия в оба стриатума крыс Вистар массой 200-250 гр. Отбор препаратов проводили в системе чистых белков. Очищенный ГАФДГ инкубировали с H_2O_2 в присутствии или отсутствии кандидатных веществ растительного происхождения (коллекция получена из БИН РАН). Агрегацию ГАФДГ оценивали с помощью метода ультрафильтрации. В процессе первичного скрининга нам удалось отобрать 7 веществ, достоверно подавляющих агрегацию ГАФДГ. При дальнейшем скрининге с использованием клеток нейробластомы человека в условиях окислительного стресса осталось 2 вещества из 7, которые достоверно подавляли агрегацию ГАФДГ и способствовали выживанию клеток. Тестирование выявленных препаратов в модели окислительного стресса у крыс при пероральном введении водного раствора в течение месяца после операции, показало, что в тесте «сужающаяся дорожка», координация движения у животных, принимающих препараты не отличалось от таковой у ложно-оперированных крыс, в то время как у животных, не проходивших лечения, наблюдались значительные нарушения координации задних лап. Изучаемые препараты не оказывали токсичного действия на животных и переносились ими хорошо.

ПОЛУЧЕНИЕ ФРАКЦИИ ГЕНОМНОЙ ДНК ДЛЯ ВЫСШИХ УЭКАРИОТ, ОБОГАЩЕННОЙ БЕЛОК-КОДИРУЮЩИМИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ ГЕНОВ

**Новаковская А.П., Увашов А.О., Тагиманова Д.С., Абдрашева К.К.,
Купешев Ж.С., Хапилина О.Н., Календарь Р.Н.**

РГП «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан

anna_novak84@mail.ru

Необходимость сохранения и рационального использования всего многообразия мировых генетических ресурсов стала насущной как никогда ранее. Необходимо создание приоритетных планов и мероприятий, которые могут использовать имеющуюся широкую гамму разнообразных генетических ресурсов, обеспечивая при этом устойчивый приток улучшенных сортов, задействуя их лучшие свойства для повышения качества продовольствия в объемах, позволяющих удовлетворять быстро растущие потребности. Эффективность селекции на урожайность, устойчивость к неблагоприятным условиям и повышения качества пищевых продуктов для здорового питания определяется многими факторами, среди которых решающее значение имеют генетические ресурсы. Особое значение имеет источник повышения качества пищевых продуктов для здорового питания и устойчивость к неблагоприятным условиям. Наиболее надежными являются дикие сородичи культурных растений, о чем писал Н.И. Вавилов еще в 1935 г. Внедрение современных молекулярно-генетических методов исследования вносит весомый вклад в структурно-функциональные исследования геномов. С помощью новых технологий секвенирования можно быстро идентифицировать новые аллели генов и генных областей, как у индивидуальных линий, так и у диких форм. Использование параллельного секвенирования генетически-отдаленных линий, содержащих разнообразный набор аллельных вариантов генома данного вида, позволит изучить природу полиморфизма на белковом уровне и использовать эти знания для разработки технологий быстрой и полной идентификации селекционных линий по всем исследуемым генам одновременно. Анализ последовательностей генов и их аллельных вариантов высших растений или животных с помощью NGS секвенирования проблематичен, так как хромосомная ДНК высших растений содержит, главным образом, последовательности повторов – ретротранспозонов, tandemных и сателлитных повторов, и некодирующие последовательности. На кодирующую часть генома приходится, в зависимости от конкретного вида, от 1% до 30% всей геномной ДНК. В этой связи нами была разработана технология получения фракции геномной ДНК, обогащенной последовательностями генов, включая интрон-экзонные и промоторные участки для высших эукариот. Принцип технологии основан на избирательной гибридизации кДНК с ядерной фракцией исследуемого организма. В результате получают смесь ПЦР фрагментов, обогащенных последовательностями генов (экзонов), которые используются для секвенирования NGS методом с помощью GS FLX+ Roche 454 секвенатора.

TRAR (TRNA-ASSOCIATED REPEATS) – КОРОТКИЕ ПОВТОРЫ ДНК С НЕИЗВЕСТНОЙ ФУНКЦИЕЙ

Новолаев Т.И., Остерман И.А.

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им.

А.Н. Белозерского, ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

timofei_novolaev@mail.ru

Транспортные РНК служат ключевым элементом в биосинтезе белка, являясь своеобразным адаптером, доставляющим аминокислоты к месту синтеза белка. В бактериальном геноме гены тРНК организованы в опероны. Эти опероны, помимо самих генов тРНК, содержат такие элементы, как TRAR'ы (*от англ. tRNA-associated repeats*). TRAR'ы – это короткие 18-ти нуклеотидные повторы, с последовательностью нуклеотидов, схожей с 3'-концом соответствующего гена тРНК, за которым они расположены. Несмотря на то, что эти повторы изучаются уже достаточно давно, до сих пор нет точной информации об их функциональном назначении в геноме. Только для оперона, кодирующего тирозиновую тРНК,

показано, что эти повторы могут экспрессироваться, в то время как для остальных оперонов такой информации нет.

В нашей работе мы пытаемся выяснить функциональную роль этих генетических элементов. С помощью двумерного белкового гель-электрофореза мы обнаружили, что в зависимости от наличия или отсутствия TRAR'ов в геноме наблюдается разный уровень экспрессии белка *agn43*. *Agn43* – это мембранный белок, расположенный на внешней стороне бактериальной мембраны, и отвечающий за автоагрегацию клеток. В свою очередь, экспрессия *agn43* регулируется посредством конкурентного связывания двух белков: *dam*-метилазы и *oxyR*. *Dam*-метилаза метилирует аденин в последовательности 5'-GATC-3', которая расположена в регуляторном участке гена *agn43*. Этот же участок является сайтом связывания *oxyR*. Когда 5'-GATC-3' не метилирован, *oxyR* может свободно связываться с этим участком, таким образом, подавляя экспрессию *agn43*. Однако, если данная последовательность будет метилирована, то *oxyR* теряет аффинность к этому участку, что приводит к экспрессии *agn43*. Для того чтобы понять, как наличие TRAR'ов может влиять на уровень экспрессии *agn43* мы сделали репортерную конструкцию, в которой промотор репортерного белка был заменен на промотор *agn43*. С другой стороны, мы использовали метод ПЦР в реальном времени, для оценки уровня представленности транскриптов как *agn43*, так и его регуляторов – *oxyR* и *dam*. Также мы оценили общее влияние TRAR'ов на работу *dam*-метилазы и, как следствие, на уровень метилирования ДНК.

ГИПЕРПРОДУКЦИЯ ПРОТЕИНАЗЫ HtrA ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК *BACILLUS SUBTILIS* К СТРЕССАМ

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

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

aliusha2306@mail.ru

Накопление денатурированных и поврежденных белков препятствует нормальному метаболизму клетки и приводит к нарушению функций и гибели клеток. Для удаления токсичных агрегатов белков все клетки используют молекулярные шапероны для осуществления повторного фолдинга и протеолитические системы для деградации полипептидов. HtrA, фермент семейства сериновых протеаз, широко распространена в одноклеточных и многоклеточных организмах. Основной функцией представителей семейства HtrA является качественный белковый контроль и удаление денатурированных и поврежденных белков. Некоторые протеиназы HtrA могут стабилизировать дефектные белки, проявляя, таким образом, функции шаперонов.

Задачей исследования было установить возможность повышения устойчивости клеток *B.subtilis* 168, характеризующихся гиперпродукцией протеазы HtrA.

Были получены штамм *B.subtilis* с нокаутированным геном HtrA в клетках, конструкция на основе вектора pDG148, обеспечивающая гиперпродукцию белка HtrA в клетках бацилл в условиях индукции IPTG. Также была получена генетическая конструкция на основе вектора pGP382, несущего конститутивный промотор DegQ. Рост штаммов с нокаутированным геном HtrA, штаммов с гиперпродукцией фермента и контрольные клетки исследовали при температурном, этанольном, солевом и оксидативном стрессах. Клетки с гиперпродукцией белка HtrA характеризовались более высокой скоростью роста по сравнению с контрольными клетками дикого типа при всех видах стресса. Клетки с нокаут мутацией гена HtrA показывали значительное замедление роста. Это позволяет заключить что белок HtrA у бацилл вовлечен в общий ответ на стресс и его повышенная продукция позволяет повысить выживаемость клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_а.

УДОБНЫЙ СТРУКТУРНЫЙ КАРКАС ДЛЯ БЕЛКОВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Опарин П.Б., Беркут А.А., Василевский А.А.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

spud-13@mail.ru

Домены в белках – универсальные структурные элементы, которые могут встречаться изолированно или входить в состав многодоменных образований. Белковые домены различаются размерами и сложностью укладки и, соответственно, их применимостью в биоинженерии. В нашей лаборатории было детально охарактеризовано семейство пептидов растений α -гарпининов с характерной простой укладкой в виде двух коротких α -спиралей, удерживаемых двумя дисульфидными связями. Такая же укладка свойственна многим другим пептидам, включая некоторые нейротоксины из яда скорпионов и моллюсков-конусов.

Мы показали, что с использованием α -гарпининового «каркаса» можно рационально получать пептиды с заданными биологическими свойствами. Так, «пересадка» всего двух аминокислотных остатков из нейротоксина скорпиона в защитный пептид пшеницы позволила полностью воспроизвести активность исходного токсина. Синтетическая химера обладала высокой аффинностью и специфичностью в отношении калиевых каналов человека Kv1.3, важной фармакологической мишени при аутоиммунных заболеваниях.

α -Гарпининовая укладка представляется универсальной и может быть использована в так называемой скаффолд-инженерии для рационального дизайна биомолекул с различными свойствами. Малый размер, высокая стабильность и разнообразие биологических функций делают α -гарпинины привлекательным объектом биоинженерии.

ПОИСК БЕЛКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В КИНЕТОХОР-ЗАВИСИМОМ РОСТЕ МИКРОТРУБОЧЕК У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Павлова Г.А.^{1,2}, Мунзарова А.Ф.^{1,3}, Попова Ю.В.^{1,4}, Разуваева А.В.^{1,3}

¹ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск;

²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) государственный университет, Казань;

³ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, ⁴ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

gerapavlova@gmail.com

Работа посвящена изучению механизмов митоза – процесса деления соматических клеток эукариот. Нарушения этого процесса приводят к онкологическим заболеваниям и врождённым дефектам. Митотическое веретено деления состоит из микротрубочек и ассоциированных с ними белков и способствует расхождению сестринских хроматид к противоположным полюсам клетки (Walczak SE *et al.*, 2010). Веретено образуется возле центросом и кинетохор – белковых структур на центромерах (Gatti M *et al.*, 2012). Известно, что кинетохор-зависимое формирование микротрубочек вносит значительный вклад в образование веретена деления. Однако на сегодняшний день сведения о факторах, участвующих в росте микротрубочек от кинетохор, носят фрагментарный характер.

Целью работы является идентификация и детальная характеристика таких факторов, используя в качестве модельного объекта плодовую мушку *Drosophila melanogaster*. Поскольку большинство белков, необходимых для деления клеток, являются эволюционно консервативными, полученные результаты прояснят и механизмы формирования веретена деления в клетках человека. Один из лучших методов анализа механизмов кинетохор-зависимого формирования микротрубочек заключается в исследовании их повторного роста после деполимеризации, вызванной холодом, поскольку на начальном этапе этого процесса микротрубочки растут преимущественно от кинетохор.

Основываясь на литературных данных, мы отобрали несколько белков-кандидатов для анализа их участия в кинетохор-зависимом формировании микротрубочек. Первыми были исследованы деполимераза микротрубочек Klp67A и белок Mast/Orbit. Анализ делящихся клеток после ингибирования экспрессии генов *Klp67A* и *Mast/Orbit (chb)* в культивируемых клетках дрозофилы S2 посредством РНК-интерференции показал, что отсутствие каждого из

белков ведет к нарушению формирования веретена деления - образуются монополярные веретена деления и подавляется стадия анафазы. Также истощение белка Klp67A приводит к удлинению биполярного веретена. Эти результаты хорошо согласуются с литературными данными. Анализ повторного роста микротрубочек от кинетохор после ингибирования экспрессии исследуемых генов в клетках S2 выявил, что только истощение белка Mast/Orbit нарушает этот процесс.

Таким образом, обнаружен белок Mast/Orbit, необходимый для кинетохор-зависимого формирования веретена деления. Дальнейшие исследования будут направлены как на понимание молекулярной роли этого белка, так и на выявление других белковых факторов, участвующих в этом фундаментальном, но всё ещё плохо изученном, процессе.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ МОДИФИКАЦИИ ПТИПА Cfr 9I

Палутина О.А., Нагорных М.О.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

olesia-alis@rambler.ru

В ходе эволюции у бактерий появилось несколько механизмов защиты от чужеродной ДНК (в том числе и вирусной). Они формируют примитивный противовирусный иммунитет у прокариот и обеспечивают стабильность генетического материала. Среди этих механизмов одно из центральных мест занимают системы рестрикции-модификации (СРМ), которые состоят из двух генов, кодирующих два фермента. Один из них – это эндонуклеаза рестрикции, которая вносит двухцепочечные разрывы по уникальным сайтам, тем самым расщепляя чужеродную ДНК. В то время как второй – метилтрансфераза - защищает хозяйскую ДНК от действия рестриктазы путем внесения модификаций в те же сайты. Кроме того, СРМ, располагаясь на мобильных генетических элементах, подвержены горизонтальному переносу и во избежание расщеления ДНК нового хозяина должны точно регулироваться.

СРМ разнообразны по своему структурно-генетическому устройству, и регуляция в них осуществляется также разными способами, но в основном на уровне транскрипции. В то же время остается группа СРМ, регуляция которых происходит, по-видимому, на пост-транскрипционном уровне. Основную роль в регуляции таких систем играют РНК молекулы, их стабильность и скорость деградации, а также эффективность инициации трансляции.

В данной работе изучается СРМ Cfr9I. СРМ Cfr9I состоит из двух генов, которые расположены ковергентно. Стартовый кодон эндонуклеазы и последний кодон, кодирующий метилтрансферазу перекрываются. В ходе работы мы экспериментально обнаружили и охарактеризовали два промотора. Один из них находится перед геном метилтрансферазы и с него транскрибируется бицистронная мРНК, кодирующая оба фермента системы. Второй – находится перед геном эндонуклеазы в структурной части гена метилтрансферазы, с которого идет синтез моноцистронной мРНК, кодирующая только эндонуклеазу. Проведен сравнительный анализ этих промоторов как *in vitro*, так и *in vivo*. Промотор перед геном метилтрансферазы является основным и сильнее промотора гена эндонуклеазы в 4 раза. Второй является вспомогательным и имеет низкую транскрипционную активность. По-видимому, этот промотор обеспечивает базальный уровень эндонуклеазы в момент установления СРМ в новом генетическом окружении при попадании в нового хозяина. Роль протяженной нетранслируемой области мРНК, синтезируемой с этого промотора еще предстоит изучить. Также ранее в этой СРМ биоинформатически была предсказана последовательность, которая на уровне РНК может формировать устойчивую вторичную структуру. Роль этой последовательности в регуляции экспрессии генов СРМ Cfr9I сейчас изучается в нашей лаборатории.

ОРФАНОВЫЙ РЕЦЕПТОР RORalpha И ЯДЕРНЫЙ РЕЦЕПТОР PPARgamma КАК РЕГУЛЯТОРЫ ОБМЕНА ХОЛЕСТЕРИНА В ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Пантелеева А.А.^{1,2}, Семенова И.А.¹, Мирошникова В.В.^{1,2}, Усенко Т.С.^{1,2},
Демина Е.П.¹, Николаев М.А.¹, Баженова Е.А.², Беркович О.А.², Баранова Е.И.²,
Пчелина С.Н.^{1,2}

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина; ²ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

aleksandra9122@mail.ru

Жировая ткань (ЖТ) играет важную роль в жизнедеятельности организма человека. Основная метаболическая роль ЖТ заключается в контроле гомеостаза липидов. Нарушение транспорта холестерина (ХС) и его аккумуляция в клетках жировой ткани – адипоцитах – может приводить к накоплению избыточной массы тела и, как следствие, развитию ожирения. Транспортеры ХС ABCA1 и ABCG1 – основные белки, контролирующими содержание ХС в адипоцитах. Орфановый рецептор RORalpha и ядерный рецептор PPARgamma – транскрипционные факторы, регулирующие экспрессию большого числа генов в жировой ткани, в частности генов метаболизма холестерина. Однако роль RORalpha и PPARgamma в контроле экспрессии генов ABCA1 и ABCG1 в жировой ткани *in vivo* практически не изучена.

Целью данной работы явилась оценка возможного влияния транскрипционных факторов RORalpha и PPARgamma на экспрессию генов ABCA1 и ABCG1 и уровень белков ABCA1 и ABCG1 в интраабдоминальной жировой ткани (ИЖТ).

Исследование было выполнено на 37 образцах ИЖТ, полученных из большого сальника в ходе лапароскопической холецистэктомии (средний возраст 44.67±8.97 лет, индекс массы тела (ИМТ) от 20 до 42 кг/м², (средний ИМТ 30.65±8.39 кг/м²). Уровень мРНК исследуемых генов в ИЖТ оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени, уровень белков – методом вестерн-блот.

Исследование показало прямую корреляцию между уровнями белков ABCA1 и ABCG1 ($r=0,575$, $p<0,005$), что указывает на одинаковые механизмы регуляции экспрессии генов ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ. Уровень белков ABCA1 и ABCG1 положительно коррелирует с уровнем мРНК PPARgamma (коэффициенты корреляции по Спирману: для ABCA1 – $r=0,681$, $p<0,005$; для ABCG1 – $r=0,529$, $p<0,05$). Уровень мРНК гена PPARgamma положительно коррелирует с уровнем белка RORalpha ($r=0,481$, $p<0,05$).

Таким образом, полученные в настоящей работе результаты дают основание предполагать возможную регуляцию уровня белков ABCA1 и ABCG1 в ИЖТ орфановым рецептором RORalpha, которая может осуществляться опосредованно через ядерный фактор PPARgamma.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МАЛЫХ ДОЗ ФОРМАЛЬДЕГИДА, ТОЛУОЛА И ТХДД НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Перегудова Д.О.¹, Плюснина Е.Н.^{1,2}, Москалев А.А.^{1,2,3}

¹ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ²ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет, Сыктывкар; ³ФГАОУ ВПО Московский физико-технологический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

delovoyd3@gmail.com

В основе изменений физиологических показателей живых организмов, вызванных теми или иными стрессорами, лежат, в первую очередь, изменения, происходящие на клеточном и молекулярном уровнях. Причиной изменения экспрессии различных генов может быть, с одной стороны, их непосредственное повреждение в результате воздействия, или же активация различных механизмов распознавания повреждений биологических структур организма и активация стресс-ответа – с другой. Актуальность изучения влияния малых концентраций

формальдегида, толуола и ТХДД заключается в их широком распространении и негативном влиянии на живые организмы. Целью данной работы является изучение изменения экспрессии генов стресс-ответа (*Hsp70*, *Mus209* (*PCNA*), *Mus210* (*XPC*), *Rrp1*, *Brca2*, *spn-B*, *Ku80*, *PARP-1*, *Gadd45*, *Wrinkled/Hid*, *Sod1*, *Sod2*, *Catalase*, *MST-1*, *Cyp4e2*), генов иммунного ответа (*Drosomycin*, *Defensin*, *Metchnikowin*) и генов, ассоциированных со старением (*dSir2*, *FOXO*, *JNK*), вызванного воздействием малых доз толуола (0.822 мкМоль/л), диоксина (50 мкМоль/л) и паров формальдегида (7%), и сопутствующих им изменения физиологических показателей (продолжительность жизни, двигательная активность, плодовитость) самцов и самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*. В результате проделанной работы показано, что вышеперечисленные воздействия вызывают достоверное увеличение медианной продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* на 2-4%, изменения плодовитости самок не выявлено, двигательная активность самцов достоверно увеличена. Также показано, что большинство изучаемых генов увеличивают свою экспрессию после воздействия малых доз формальдегида, толуола и диоксина.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-01596.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ОКСИТОЦИНОВОГО (*OXTR*, rs53576) И АНДРОГЕНОВОГО (*AR*, *CAG*-ПОВТОРЫ) РЕЦЕПТОРОВ У МУЖЧИН АФРИКАНСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ХАДЗА И ДАТОГА

**Петросян Н.С.^{1,2}, Суходольская Е.М.¹, Шибалев Д.В.¹, Кутузова Н.М.²,
Бутовская М.Л.³, Васильев В.А.¹**

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, ²ФГБОУ ВПО Московский педагогический
государственный университет, ³ФГБУН Институт этнологии и антропологии им.
Н.Н. Миклухо-Маклая РАН, Москва, Россия

gunnar.rus@gmail.com

При изучении различных форм социального поведения таких, как альтруизм и агрессия, большое внимание уделяется генам окситоцинового и андрогенового рецепторов. Целью данной работы явилось изучение полиморфизмов генов окситоцинового (*OXTR*, rs53576) и андрогенового (*AR*, *CAG*-повторы) рецепторов у мужчин в традиционных племенных обществах Танзании с разным уровнем культурно допустимой агрессии – хадза (эгалитарные охотники-собиратели) и датога (военизированные полуседлые скотоводы). Для анализа использовалась ДНК мужчин хадза (n=197) и датога (n=231). Исследование гена *OXTR* проводилось методом ПЦР с локус-специфичными праймерами с последующей обработкой продуктов амплификации эндонуклеазой рестрикции *Vam*HI. Фрагментный анализ *CAG*-повторов *AR* проводили на приборе Applied Biosystems 3100 после проведения локус-специфичной ПЦР. Обе популяции по локусу *OXTR* находятся в состоянии равновесия. В обеих популяциях преобладает G аллель (0.73 – датога, 0.61 – хадза). Нами выявлены значительные различия в распределении частот гомозиготного генотипа G/G (0,54 – датога, 0,34 – хадза) и гетерозиготного генотипа G/A (0,38; 0,56 соответственно), однако разница в частоте гомозигот A/A незначительна (0,09 и 0,10, соответственно). Ранее было показано, что носители A аллеля демонстрируют низкую степень родительской теплоты и эмпатии по отношению к потомкам и имеют высокие показатели аутизма, а носители G аллеля обладают высоким уровнем поведенческой эмпатии и склонны к альтруизму. По локусу *AR* в популяциях хадза и датога нами выявлено 17 аллельных вариантов. Для обеих популяций характерно распределение аллельных вариантов со средним количеством (от 20 до 25) *CAG*-повторов, их суммарная встречаемость в популяции хадза составляет 0.83, причем аллели, содержащие 21 и 22 *CAG*-повтора, составляют у хадза 0.49, а у датога 0.71 с отсутствием выраженного максимума. Также для популяции датога характерна большая встречаемость вариантов с малым (менее 17) и большим (более 26) количеством *CAG*-повторов, а представители хадза оказались менее полиморфны по данному локусу. Ранее было показано, что короткие *CAG*-повторы ассоциированы с криминальным поведением и чертами доминирования и агрессии. Выяснение возможных связей аллельных вариантов данных локусов с различными формами социального поведения, является предметом нашей дальнейшей работы.

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В CRE-КАРМАНЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ НА РАЗНЫЕ СТАДИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Петушков И.В., Пупов Д.В., Басс И.А., Кульбачинский А.В.

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

telomer1@rambler.ru

В ходе элонгации транскрипции РНК-полимераза (РНКП) должна взаимодействовать с ДНК-матрицей с низкой специфичностью, что необходимо для эффективной транслокации фермента и удлинения РНК. Однако, недавние структурные исследования бактериальных транскрипционных комплексов выявили специфические взаимодействия между нематричной цепью ДНК и специальным карманом РНКП; узнаваемый участок ДНК получил название core recognition element (CRE), а соответствующий белковый карман – CRE-карман.

Мы изучили роль этих взаимодействий в транскрипции путём анализа точечных мутаций и делеций в районах, образующих CRE-карман, в РНКП *Escherichia coli*. Изученные мутации влияют на все стадии транскрипции, включая узнавание и уход с промотора, элонгацию и терминацию транскрипции.

Мы установили, что взаимодействия CRE-кармана с остатком гуанина в +1 положении нематричной цепи ДНК (относительно активного центра РНКП) стимулирует образование пауз транскрипции, вызываемых наличием шпильки в синтезируемой РНК. В то же время, эти взаимодействия не влияют на паузы других классов или даже подавляют их формирование. Таким образом, образование вторичных структур в растущей РНК вызывает конформационные изменения элонгационного комплекса, которые могут модулировать влияние CRE на синтез РНК на стадии элонгации транскрипции. Исследования *in vivo* показали, что некоторые исследованные мутантные варианты РНКП являются токсичными для клеток *E.coli*, а некоторые придают клеткам устойчивость к антибиотику рифампицину, специфически блокирующему процесс транскрипции. Полученные результаты показывают большую роль специфических взаимодействий кор-фермента РНКП с ДНК на разных стадиях транскрипции, что важно для регуляции транскрипции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-01696.

ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ИЗОФОРМ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ OCT-1

Порцева Т.Н., Бречалов А.В.

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

tanjnij86@mail.ru

Понимание механизмов дифференциальной активности генов в онтогенезе организма составляет большую ценность в современной биологии и медицине. Единственный транскрипционный фактор может участвовать в регуляции самых разнообразных процессов в течение всей жизни организма. Примером полифункциональных молекул является белок Oct-1. Oct-1 принадлежит к ROU-семейству факторов транскрипции. Транскрипция гена Oct-1 находится под контролем трех промоторов. В настоящее время о роли Oct-1 известно, что кроме генов домашнего хозяйства, под его контролем находится транскрипция многих тканеспецифических генов.

Целью выполнения работы было изучение изоформ фактора транскрипции Oct-1. Были клонированы новые изоформы фактора транскрипции Oct-1: Oct-1R и Oct-1X. Эти изоформы имеют новые, не известные ранее, аминокислотные последовательности на N- и C-концах молекулы, что может существенным образом влиять на транскрипционную активность этих изоформ Oct-1.

Были получены ДНК-конструкции на основе лентивируса для экспрессии изоформ Oct-1R и Oct-1X с эпитопом 3×FLAG на C-конце белковой молекулы. Проведена трансфекция этими конструкциями двух линий клеток человека: МТ-4 Т-клеточная лимфома и В-клеточная лимфома Буркитта – Namalva. Методом Вестерн-блот и гибридизации с антителами к FLAG-эпитопу и «общими» антителами к Oct-1 белку была определена экспрессия белковых изоформ в трансфицированных и не трансфицированных линиях клеток МТ-4 и Namalva. Было показано,

что в трансфецированных линиях клеток экспрессируются полноразмерные изоформы Oost-1R и Oost-1X и их количество превышает количество эндогенного Oost-1 в 3-5 раз.

Нами было показано, что оверэкспрессия X и R в клетках приводит к изменению чувствительности транскрипции генов – регуляторов апоптоза. В ходе работы мы определяли влияние изоформ белка Oost-1 на чувствительность клеток к индукторам апоптоза. Для индукции апоптоза были выбраны два широко применяемых в клинической практике противоопухолевых препарата – камптотецин и дексаметазон. Камптотецин – сильный индуктор апоптоза для клеток МТ-4 и Namalva. Оверэкспрессия изоформ Oost-1R и Oost-1X усиливает камптотецин - индуцированный апоптоз. При этом оверэкспрессия Oost-1X в клетках Namalva в большей степени усиливает камптотецин - индуцированный апоптоз по сравнению с Oost-1R. В клетках МТ-4 обе изоформы примерно одинаково влияют на индукцию апоптоза. Дексаметазон – слабый индуктор апоптоза для клеток МТ-4 и Namalva. Оверэкспрессия изоформ Oost-1R и Oost-1X не оказывает существенного влияния на индукцию апоптоза под действием дексаметазона. Следовательно, оверэкспрессия Oost-1 может являться про – апоптотическим фактором в зависимости от выбранной экспериментальной модели.

Работа поддержана РФФИ проект № 14-04-32341.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОВ NCR-ПЕПТИДОВ У ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM L.*)

Прахова М.С., Сулима А.С., Жуков В.А., Тихонович И.А.

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

marinich5@rambler.ru

NCR-пептиды (англ. nodule-specific cysteine rich) представляют собой короткие (60-90 аминокислот) и очень вариабельные цистеин-богатые белки. У бобовых растений NCR-пептиды играют роль сигнальных молекул при формировании азотфиксирующих клубеньков, управляя дифференцировкой клубеньковых бактерий в симбиотическую форму – бактериоиды.

У модельного бобового растения люцерны слабоусечённой (*Medicago truncatula* Gaertn.) было обнаружено 566 генов группы NCR, которые экспрессируются в клубеньках. Для сельскохозяйственно-ценного вида горох посевной (*Pisum sativum L.*) более 20 лет назад были описаны несколько клубенёк-специфичных генов, сейчас относимых к генам NCR-пептидов. Последовательности генов NCR-пептидов уникальны настолько, что в пределах различных видов бобовых невозможно найти пары ортологичных генов. В связи с этим, в настоящем исследовании проводится идентификация последовательностей генов NCR-пептидов на основе данных секвенирования транскриптома клубеньков гороха посевного.

С использованием BLASTN проведен поиск генов-кандидатов среди данных анализа транскриптома клубеньков гороха по гомологии с генами ранних нодулинов и известными генами NCR-пептидов *M.truncatula*. Для каждого выявленного транскрипта определена соответствующая белковая последовательность. На настоящий момент нами описано более 50 генов, потенциально кодирующих NCR-пептиды гороха, и ведется дальнейшая работа по поиску новых генов этого семейства.

Для идентифицированных генов NCR-пептидов в настоящее время проводится анализ дифференциальной экспрессии по данным секвенирования транскриптома клубеньков серии мутантных линий гороха посевного, результаты которого будут также представлены в докладе.

Исследование поддержано грантами Президента РФ (НШ-4603.2014.4), РФФИ (13-04-01702-а, 13-04-01703-а и 14-04-01442-а) и РФФИ (14-24-00135).

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ НАЛИЧИЕМ СУБСТРАТА В САЙТЕ СВЯЗЫВАНИЯ И КОНФОРМАЦИЕЙ ПЕТЛИ L11 УРИДИН-ФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ *VIBRIO CHOLERAЕ*

Прокофьев И.И.¹, Лашков А.А.¹, Габдулхаков А.Г.^{1,2}, Михайлов А.М.¹

¹ФГБУН Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, Москва;

²ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

prokoigor@mail.ru

Во многих видах бактерий, включая *Vibrio cholerae*, в ре-синтезе пиримидиновых оснований участвует уридинфосфорилаза (*VchUPh*). Она осуществляет обратимую реакцию фосфоролитического расщепления до азотистых оснований как уридина, так и тимидина, но с меньшей эффективностью.

Помимо аминокислотных остатков (а.о.) сайтов связывания в работе фермента как молекулярной машины принимает участие функционально-значимая петля L11 (а.о. 221-235). В статьях Caradoc-Davies'a ТТ описано, что петля (а.о. 221-235) бактериальных уридинфосфорилаз выступает в качестве “шлагбаума”, который перекрывает собой вход в активный центр после прохождения туда молекулы субстрата.

В определенных методом рентгеноструктурного анализа структурах комплексов *VchUPh* (*VchUPh*+тимин (1.25 Å, ID PDB: 4OGL), *VchUPh*+урацил (1.91 Å, ID PDB: 4OEH), *VchUPh*+тимидин (1.29Å, ID PDB: 4LZW), *VchUPh*+PO₄ (1.29Å, ID PDB: 4IP0)) проанализирована зависимость состояния петли L11 от связывания лигандов.

Конформация петли не определяется однозначно присутствием атомов лиганда в нуклеозид-связывающем сайте. Однако в структуре комплекса *VchUPh* с фосфат-анионом присутствует только закрытая конформация петель L11 при связывании с фосфат-анионом. По всей видимости, Arg90 и Thr93 (а с этими а.о. и весь β5-стренд) стабилизируются фосфатом гораздо сильнее рибозной компоненты нуклеозидов. Изменение конформации β5-стренда приводит к смещению параллельного ему β8-стренда. β8-стренд в свою очередь изменяет конформацию смежного с ним начального участка петли L11, стабилизируя её в закрытом состоянии, в частности через ван-дер-ваальсово взаимодействие гидрофобного Pe220 (β8-стренд) и Cα атома Pro228 (петля L11). Результаты работы важны для понимания функционирования фермента как молекулярной машины и нахождения способов ее регулирования.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКА GLNR ИЗ *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Саетгараева А.А., Журавлева Д.Э., Каюмов А.Р.

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

albi121993@mail.ru

Азот относится к основным макроэлементам, необходимым для построения многих компонентов клетки – белков, нуклеиновых кислот, витаминов, муреина и многих других. Наиболее предпочтительными источниками азота для многих бактерий являются глутамин и ионы аммония.

Несмотря на широкое применение бактерий *Lactobacillus*, некоторые аспекты их метаболизма остаются малоизученными. У бактерий *Lactobacillus plantarum* 8PA3 в геноме нами идентифицирован ген *glnR*, который кодирует фактор транскрипции, гомологи которого у многих бактерий регулируют гены азотного обмена в условиях избытка доступного азота.

Целью работы являлось очистить рекомбинантный белок GlnR и путем pull down анализа определить белки-партнеры для взаимодействия с GlnR в клетках *L.plantarum* 8PA3. Для этого был получен рекомбинантный штамм *E.coli* BL21 pET15b-LpGlnR, способный к гиперпродукции рекомбинантного белка LpGlnR с N-концевой гексагистидиновой последовательностью. Белок был очищен до электрофоретической гомогенности на Ni-NTA сефарозе с последующей доочисткой путем гель-фильтрации. Также методом гель-фильтрации было установлено, что белок способен к димеризации и, по всей видимости, способен обладать ДНК связывающей активностью.

Для определения белков-партнеров для взаимодействия с LpGlnR, проводили pull down анализ с экстрактом клеток *L.plantarum* 8PA3. Ранее было показано, что в клетках *Bacillus subtilis* белок GlnR, гомология которого с белком лактобацилл составляет 84%, взаимодействует с глутаминсинтетазой в присутствии глутамина и ДНК. Поэтому к экстракту клеток добавляли глутамин до конечной концентрации 20 мМ и ДНКазу (1 мкг/мл) для разрушения геномной ДНК. Анализ фракций элюции не выявил белков партнеров для белка LpGlnR. Однако, анализ самого белка LpGlnR выявил его ограниченный протеолиз с С-конца во фракциях, где была внесена ДНКаза. По-видимому, в отсутствие ДНК белок LpGlnR не взаимодействует с регуляторными партнерами (предположительно – с глутаминсинтетазой по аналогии с *Bacillus subtilis*) и подвергается частичной деградации. Данный факт может отражать способ регуляции активности белка в клетках *L.plantarum*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-32317 мол_а.

РОЛЬ ЦИНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО САЙТА В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ РЕГУЛЯТОРА FUR В. CEREUS

Салям В.И., Шадрин А.М., Солонин А.С.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пушино, Россия

v.salyamoff@yandex.ru

Ferric Uptake Regulator (Fur) является одним из важнейших плейотропных регуляторов транскрипции грамположительных бактерий, в частности у *V. cereus*. Данный регулятор не только контролирует экспрессию генов, вовлеченных в метаболизм железа, но прямо или опосредованно влияет на экспрессию сотен генов с различными функциями. В частности, Fur вовлечен в контроль ряда факторов патогенности.

Мы провели моделирование трехмерной структуры Fur *V. cereus* на основе опубликованной структуры гомолога – Fur *Campylobacter jejuni*, который имеет наибольшее сходство аминокислотных последовательностей (идентичность 33%), среди известных структурных гомологов Fur.

Результаты нашего моделирования показали, что несмотря на сходство аминокислотных последовательностей, структурная организация металлсвязывающих сайтов (МСС) данных белков значительно различаются.

ДНК-связывающей формой белка Fur является симметричный димер, содержащий 2-3 атома двухвалентных металлов на каждый мономер, находящихся в соответствующих МСС (структурный, регуляторный и дополнительный).

Структурный МСС Fur состоит из четырех остатков цистеина и включает атом цинка. Предполагается, что при окислении цистеинов и образовании дисульфидных мостиков удержание цинка внутри сайта становится невозможным, что в свою очередь делает невозможным образование димера и, соответственно, связывание белка с ДНК.

В этой работе мы определили ДНК-связывающую активность белка Fur *V. cereus* ATCC-14579 методом задержки в геле с использованием в качестве ДНК-субстрата промотора гена гемолизина II, содержащего оператор Fur в различных условиях.

Было установлено что, добавление SH-восстанавливающих агентов приводило к увеличению константы связывания белка Fur с его оператором в 11,3 раза. Следовательно, наиболее эффективной ДНК-связывающей формой является форма белка Fur с восстановленными SH-группами. Переход белка Fur из окисленной в восстановленную форму может служить дополнительным фактором регуляции в бактериальной клетке.

Также при помощи масс-спектрометрии, нативного электрофореза и направленного мутагенеза была выяснена роль каждого цистеинового остатка в формировании и функционировании МСС.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВАРИАНТА R219K ГЕНА ABCA1 НА ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР ПЛАЗМЫ КРОВИ И РИСК РАЗВИТИЯ ОЖИРЕНИЯ

**Семенова И.А.¹, Пантелеева А.А.^{1,2}, Мирошникова В.В.^{1,2}, Бровин Д.Л.²,
Баженова Е.А.², Баранова Е.И.², Пчелина С.Н.^{1,2}**

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, Гатчина;

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.
академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

perhaps_to_be@mail.ru

Гиперлипидемия в комбинации с избыточным весом и ожирением является фактором высокого риска развития сердечно-сосудистых осложнений. При этом основной вклад в дисбаланс между липидными фракциями плазмы крови могут вносить нарушения обмена холестерина. АТФ-связывающий кассетный транспортер ABCA1 играет ключевую роль в процессе биосинтеза липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), осуществляя перенос холестерина из клеток на аполипопротеин А-I. В свою очередь варианты в кодирующей области гена ABCA1 могут оказывать влияние на эффективность транспорта холестерина и, тем самым, вносить вклад в вариации уровня основных липидов плазмы крови.

Цель – исследование вклада варианта R219K гена ABCA1 в риск развития ожирения и его влияния на липидный спектр плазмы крови.

Материалы и методы. Исследование проводилось в двух группах: 1) лица с избыточным весом и ожирением (N=191, ИМТ \geq 25); 2) контрольная группа (N=156, ИМТ $<$ 25). Генотипирование варианта R219K гена ABCA1 было выполнено с использованием метода ПЦР с последующим рестрикционным анализом. Уровень липидов в плазме крови был измерен на автоанализаторе А-15. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 8.0. Для сравнения распределения аллелей между исследуемыми группами использовали критерий хи-квадрат, для оценки различий липидных показателей между носителями различных генотипов – U-тест Манна-Уитни.

Результаты. Частота генотипа KK219 гена ABCA1 в контрольной группе была достоверно выше, чем в группе лиц, страдающих избыточным весом (9.0% vs 3.1%, $p<0.05$), что свидетельствует о его предохраняющей роли в отношении развития ожирения. Однако, среди лиц, страдающих избыточным весом, аллель K219 достоверно ассоциировался с повышением уровня триглицеридов плазмы крови (медиана (мин-макс) 1.14 (0.44-6.18) vs 1.36 (0.53-4.67), $p<0.02$) и повышением значения коэффициента атерогенности (медиана (мин-макс) 2.99 (1.27-10.19) vs 3.34 (1.57-10.33), $p<0.02$).

Заключение. Среди носителей генотипа KK219 гена ABCA1 реже встречаются лица с избыточным весом. Вариант R219K гена ABCA1 имеет модифицирующее влияние на липидный спектр плазмы крови у лиц с избыточным весом.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ НУКЛЕОПРОТЕИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Сердюков Д.С.

ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

RNA5S120@yandex.ru

Известно, что внеклеточная ДНК (внДНК) циркулирует в кровотоке в составе нуклеопротеиновых комплексов (НПК), апоптотических телец, а также связана с поверхностью форменных элементов. На настоящий момент состав, строение и особенности циркуляции НПК малоизучены, однако результаты ряда исследований указывают на то, что с их помощью может осуществляться перенос в другие клетки функционально активных нуклеиновых кислот, что они важны для нормального функционирования многоклеточных организмов, а также могут быть связаны с развитием ряда заболеваний. Цель работы – разработка подходов к выделению

НПК, циркулирующих в крови здоровых женщин (ЗЖ) и больных раком молочной железы (РМЖ), и их дальнейшая характеристика.

НПК, содержащие лактоферрин и НПК, содержащие гистоны, выделяли из плазмы крови ЗЖ (образцы получены из Отделения переливания крови Центральной клинической больницы Советского района г. Новосибирска) и больных РМЖ (T₁₋₂N₀M₀; образцы получены из Торакального отделения Новосибирского областного онкологического диспансера) аффинной хроматографией на сорбентах с антителами против лактоферрина и сорбентах с антителами против гистонов, соответственно. Концентрацию вДНК в составе НПК определяли с помощью количественной ПЦР, концентрацию белка в составе НПК – с помощью набора «NanoOrange Protein Quantitation Kit», спектр белков в составе НПК анализировали электрофорезом по Лэммли.

Показано, что в составе лактоферрин-содержащих НПК из плазмы крови ЗЖ и больной РМЖ доля ДНК составила не более 0,04 % от общего содержания вДНК плазмы крови (вклад лактоферрина в транспорт вДНК в кровотоке оказался незначительным), а количество белка – 2,7 и 4,3 % от общего белка плазмы, соответственно. В составе гистон-содержащих НПК доля ДНК составила в среднем 3,1 и 1,9 % от общего содержания вДНК плазмы крови в норме и при РМЖ, соответственно, количество белка – ~ 4 % от общего белка плазмы как в группе ЗЖ, так и больных РМЖ. По данным электрофореза в составе НПК присутствуют мажорные белки: иммуноглобулины и лактоферрин в обоих типах НПК, сывороточный альбумин и гистоны в гистон-содержащих НПК. Также в обоих типах комплексов обнаружены минорные белки с молекулярными массами 11–170 кДа.

Т. о. предложен подход по выделению циркулирующих в крови НПК методом аффинной хроматографии на сорбентах с иммобилизованными антителами против белков, входящих в состав НПК. Полученные результаты позволят расширить представления о роли внеклеточных ДНК-связывающих белков в поддержании гомеостаза и помогут выявить закономерные молекулярные изменения, характерные для РМЖ.

ВЛИЯНИЕ ОНКОГЕННОЙ МУТАЦИИ JAK2 V617F, СВЯЗАННОЙ С РАЗВИТИЕМ МИЕЛОФИБРОЗА, НА МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАКРОФАГОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В СРЕДЕ С ТРОМБОЦИТАРНЫМ ЛИЗАТОМ

Силютин А.А., Жук С.В., Бутылин П.А., Зарицкий А.Ю.

Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр,
Санкт-Петербург, Россия

silyutina.anna89@gmail.com

Миелофиброз с миелоидной метаплазией относится к хроническим миелопролиферативным заболеваниям (ХМПЗ) и характеризуется неэффективным эритропозом, мегакариоцитарной дис- и гиперплазией и увеличением отношения числа юных гранулоцитов к общему числу гранулоцитов. Несмотря на то, что частота встречаемости данного заболевания не очень высокая, течение заболевания является очень тяжелым. Существуют гипотезы, согласно которым первичные нарушения при миелофиброзе происходят в мегакариоцитарном звене, а затем, под действием тромбоцитарных факторов, реализацию фиброза осуществляют макрофаги.

Целью исследования явилась оценка роли онкогенной мутации JAK2 V617F, связанной с развитием миелофиброза, на молекулярно-биологические характеристики макрофагов при культивировании в среде с лизатом тромбоцитов.

Для проведения исследования была создана клеточная линия с экспрессией онкогенной мутации JAK2 V617F, а также JAK2 дикого типа. Создание трансгенной линии производилось с помощью лентивирусной модификации линии моноцитарной лейкемии THP-1, способной дифференцироваться в макрофаги. Клетки были дифференцированы *in vitro* в макрофаги под действием форболового эфира (PMA). Инкубация клеток осуществляется в среде RPMI-1640 с 0,1% гентамицина, 1% l-глутамина и 10% фетальной сыворотки либо 5%, 10% и 15% лизата тромбоцитов. В процессе исследования оценивался уровень экспрессии TGFβ1, галектина-3,

матриксных металлопротеиназ (ММП) 2 и 9, тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМП) и WT1.

Было выявлено значимое повышение уровней экспрессии галектина-3, ММП-2 и ТИМП-3 у линии, содержащей мутацию JAK2 V617F, по сравнению с немодифицированной и содержащей JAK2 дикого типа линиями, при культивировании на среде с 10% фетальной сыворотки. Также было выявлено значимое повышение уровней экспрессии ММП-2, ТИМП-3 и ТИМП-4 у линии, содержащей мутацию, при культивировании на среде с 10% лизата тромбоцитов. Галектин-3 способствует пролиферации гемопоэтических клеток и активации миофибробластов. Это позволяет предположить, что мутация JAK2 V617F в геноме макрофагов способствует развитию миелофиброза. В свою очередь, ММП-2 и ТИМП-3 оказывают антифибротическое действие, что может свидетельствовать о том, что патогенетические изменения, приводящие к фиброзу, происходят уже на посттранскрипционном уровне.

Таким образом, можно предположить, что макрофаги с мутацией JAK2 V617F играют значительную роль в развитии миелофиброза при Ph(-) ХМПЗ.

СБЛИЖЕННЫЕ АЛЛЕЛИ ГЕНОВ IGН И С-МУС - ПАРТНЕРОВ ПО ЛЕЙКОЗОГЕННЫМ ТРАНСЛОКАЦИЯМ- ПРЕИМУЩЕСТВЕННО РЕЛОКАЛИЗУЮТСЯ В ПЕРИНУКЛЕОЛЯРНОЕ ПРОСТРАНСТВО ЯДРА В ХОДЕ СОЗРЕВАНИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ

Скляр И.В.

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

h8love@gmail.com

Сближенные аллели генов IGН и с-мус - партнеров по лейкозогенным транслокациям- преимущественно релокализуются в перинуклеолярное пространство ядра в ходе созревания В-лимфоцитов.

Транслокации являются отличительной чертой и одновременно причиной возникновения лимфом и лейкозов. Для того, чтобы транслокация была возможна в принципе, необходимо не только одновременное повреждение ДНК генов - партнеров по транслокациям и ошибочная репарация двухцепочечных разрывов, но и сближение рекомбинирующих локусов в пространстве ядра. В ходе дифференцировки В-лимфоцитов locus генов тяжелой цепи иммуноглобулинов претерпевает последовательно целый ряд рекомбинационных и мутационных процессов: V(D)J-рекомбинацию, соматическую гипермутацию и CSR- класс-свич рекомбинацию, в ходе которых в различные участки локуса вносятся двухцепочечные разрывы. Одним из медиаторов внесения этих разрывов является фермент AID- индуцируемая цитидиндеаминаза. Специфичность действия этого фермента обеспечивается в том числе секвестрированием AID в ядрышке и околядрышковом пространстве, однако мишенью действия этого фермента могут оказаться некоторые онкогены, транслокации которых в locus IGН способны вызвать лейкоз. Мы показали, что в ходе дифференцировки В-лимфоцитов, на стадии соматической гипермутации большая часть аллелей локуса IGН привлекается в околядрышковое пространство, где концентрация AID максимальна. Ген с-мус является частыми партнером локуса IGН по транслокациям, ведущим к развитию лимфомы Беркитта. Нашей задачей было изучение особенностей ядерной локализации сближенных аллелей локусов IGН и с-мус в ходе дифференцировки В-лимфоцитов. С использованием процедуры 3D FISH с флуоресцентными пробами к локусам-партнерам по рекомбинации с одновременным иммуноокрашиванием ядрышка мы показали, что в ходе соматической гипермутации локуса IGН сближенные аллели с-мус и IGН преимущественно локализуются в околядрышковом пространстве. Такая ядерная локализация сближенных аллелей увеличивает вероятность их одновременного повреждения AID в ходе процесса соматической гипермутации, ошибочной репарации разрывов и последующей лейкозогенной транслокации.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭПОКСИАЛКОГОЛЬСИНТАЗЫ CsEAS ОГУРЦА (*CUCUMIS SATIVUS*)

Смирнова Е.О., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н.
ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

yelena.smirnova@aiasec.net

Результатом функционирования липоксигеназного каскада в растениях является синтез биоактивных производных липидов, объединенных общим названием оксилипины. Оксилипины участвуют в формировании реакции ответа на механические повреждения, наносимые животными или насекомыми, стрессоры и атаку патогенов. Разнообразие оксилипинов обеспечивается активностью неклассических цитохромов P450 семейства CYP74. К ним относятся: алленоксидсинтазы (АОС), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и гидропероксидлиазы (ГПЛ). Не так давно к этому ряду стали относить и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС).

Геном огурца (*Cucumis sativus*) был расшифрован, что дало возможность проанализировать все гены семейства CYP74. По результатам анализа была выбрана одна последовательность, кодирующая фермент CYP74, который, однако, нельзя однозначно отнести ни к АОС, ни к ГПЛ, ни к ДЭС. Данная последовательность была клонирована в векторе системы pET; соответствующий рекомбинантный фермент охарактеризован. Анализ продуктов, полученных в результате инкубации рекомбинантного фермента с 9-гидроперекисью линолевой кислоты, показал наличие эпокси спиртов и тригидроксикислот, а также α -кетона в минорном количестве. Таким образом, можно сделать вывод о том, что данный фермент является эпоксиалкогольсинтазой. Ему было дано тривиальное название CsEAS. Таким образом, ряд растений, у которых обнаружена эпоксиалкогольсинтаза, пополнился еще одним видом.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-08310 А.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА NETO2, АССОЦИИРОВАННОГО С РАЗВИТИЕМ ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫХ ПАТОЛОГИЙ

Снежкина А.В., Жикривецкая С.О., Москалев А.А.

ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

leftger@rambler.ru

В связи со старением населения России растет число раковых заболеваний. Рак почки является распространённым онкоурологическим заболеванием: ежегодно в России диагностируется примерно 20 тыс. новых случаев. Риск развития рака почки сильно коррелирует с возрастом, средний возраст больных – 61 год.

Ранее нами с помощью биоинформатического скрининга транскриптомных баз данных идентифицирован ген *NETO2*, характеризующийся дифференциальной экспрессией при карциномах. Ген *NETO2* кодирует трансмембранный белок и экспрессируется в нормальных тканях головного мозга и сетчатки. С помощью метода ПЦР в режиме реального времени нами показано значительное повышение уровня мРНК гена *NETO2* в злокачественных опухолях различных локализаций, прежде всего почки (97%) и легкого (90%).

В настоящем исследовании нами проведен анализ данных для более чем 150-ти парных образцов рака почки человека, представленных в базах «The Cancer Genome Atlas», «Agilent» и «Opcomine». Определена роль метилирования, транскрипционных факторов и факторов ремоделирования хроматина в регуляции экспрессии гена *NETO2*. Для 14-ти из 16-ти CpG-сайтов, расположенных на гене и в его промоторной области, отмечено отсутствие метилирования как в нормах, так и в светлоклеточных почечно-клеточных карциномах. Напротив, CpG-динуклеотиды, локализованные на гене *NETO2* (cg03283929 и cg05532446) были метилированы и в норме и в опухолях. При этом для CpG-сайта cg05532446 показана утрата метилирования в 25% ($P < 0.01$) случаев. Кроме того, идентифицированы потенциальные транскрипционные факторы, активирующие транскрипцию гена *NETO2*: SERTAD2, SAP30, TBL1XR1 и NMI – при светлоклеточном раке почки; BRCA1, RNF2, TRIP13, CCT4, CCNE1,

BCL10, CSRP2, TRIB3 и TRIM58 – при папиллярном раке почки, а также факторы, ингибирующие транскрипцию гена *NETO2*: CRTCL1, PPARGC1A, JMY и MYCBP – при светлоклеточном раке почки. Более того, выявлены гены, потенциально участвующие в процессах ремоделирования хроматина, изменение экспрессии которых ассоциировано с повышением уровня мРНК гена *NETO2* при светлоклеточном (RB1, SIRT1 и KDM3A) и папиллярном (SCML2, CENPQ, ATAD2, HJURP, CENPA, OIP5, HELLS и MORF4L2) раке почки.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНВАЗИИ *L. MONOCYTOGENES* В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЗАМЕН В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ИНТЕРНАЛИНОВ

Собянин К.А., Ермолаева С.А., Адгамов Р.Р., Гинцбург А.Л.

ФГБУ Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

dr.konstsob@yandex.ru

Факультативный внутриклеточный паразит *Listeria monocytogenes* вызывает листериоз – сапронозное инфекционное заболевание человека и животных. Критическим этапом развития инфекции является активная инвазия возбудителя в нормально нефагоцитирующие эукариотические клетки, прежде всего, эпителиальные клетки и гепатоциты. Активная инвазия осуществляется за счет взаимодействия факторов патогенности *L. monocytogenes* с поверхностными эукариотическими рецепторами. Основную роль при инвазии в гепатоциты, эпителиальные и некоторые другие типы клеток играет белок InI, который взаимодействует с рецептором фактора роста гепатоцитов HGFR (Met). Met является консервативным белком, присутствующим у всех видов млекопитающих, хотя для него наблюдается определенная межвидовая дивергенция. Бактериальный белок InIB характеризуется природными вариантами. Выявленные замены могут влиять на эффективность взаимодействия InIB с эукариотическими рецепторами.

Целью данной работы являлась оценка эффективности инвазии *L. monocytogenes* в эукариотические клетки различного происхождения в зависимости от замен в последовательностях интерналинов. Для объективного анализа влияния аминокислотных замен в природных последовательностях inIB необходимо было получить изогенные варианты *L. monocytogenes*. 12 аллельных вариантов интерналина В, отличающихся аминокислотными заменами, были получены в ПЦР на матрице различных штаммов *L. monocytogenes*. ПЦР-продукты были клонированы в шаттл-вектор вектор pTRKH2, уже содержащий промоторную область, что позволило устранить эффекты от различий в уровне экспрессии генов. Полученные плазмиды были трансформированы в штамм *L. monocytogenes* EGD Δ inIB с делецией соответствующего хромосомного гена. Изогенные рекомбинантные штаммы были использованы для инфекции эпителиальных клеток человека HEK293 и мышинной карциномы С26. Эффективность инвазии оценивали как отношение числа внутриклеточных бактерий к заражающей дозе. Внеклеточных бактерий устраняли с помощью гентамицина, который не токсичен для внутриклеточных бактерий.

С помощью разработанной системы были получены следующие результаты: среди четырех исследуемых вариантов InIB эффективность инвазии на линии С26 варьировалась от 0,003352% до 0,0155405%, наибольшую эффективность показал изогенный вариант несущий последовательность inIB, клонированную из штамма VIMPHk23, принадлежащего к 64 сиквенстипу и характеризуемого заменой Q(72)H. В клетки линии HEK293 изогенные варианты проникали с одинаковой эффективностью.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ SLAMF9-РЕЦЕПТОРНОГО КОМПЛЕКСА ЧЕЛОВЕКА

Сократян А.М.^{1,2}, Баранов К.О.², Гусельников С.В.², Таранин А.В.²

¹ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, ²ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

howors@gmail.com

Изучение иммунорегуляторных молекул является перспективным направлением в создании модулирующих препаратов для лечения аутоиммунных и хронических вирусных заболеваний. Экспериментально было показано, что белки-рецепторы семейства SLAM участвуют в регуляции иммунного ответа, способствуя как активации клеток в присутствии патогена, так и ее подавлению для предотвращения аутоиммунных реакций. Наименее изученным белком семейства является SLAMF9, экспрессия которого в линиях клеток и лимфоидных тканях на уровне белка не детектировалась. Функция, локализация и лиганды белка неизвестны.

Одним из способов определения природной локализации и возможных функций рецептора является идентификация компонентов его рецепторного комплекса. Для определения компонентов SLAMF9-рецепторного комплекса человека необходимо увеличить экспрессию SLAMF9 в содержащих его клетках. Различные лейкоцитарные линии клеток человека подвергали обработке стимулирующими агентами, данные анализировали с целью определения состояния клеток, при котором происходит увеличение экспрессии SLAMF9-рецепторного комплекса. Также в интактных линиях клеток индуцировали эктопическую экспрессию SLAMF9 с помощью системы рекомбинантных лентивирусов.

В результате среди линий клеток, используемых в анализе, отобрали линию THP-1 моноцитарного происхождения, в которой происходит увеличение экспрессии SLAMF9 при индукции бактериальным ЛПС и NiCl₂. Вестерн-блот анализом клеточных линий, эктопически экспрессирующих SLAMF9, было показано, что в той же линии THP-1 при отсутствии восстановителя выявляется белковый комплекс, содержащий помимо SLAMF9 и другие белки. В данный момент идет работа по идентификации этих белков. Таким образом, мы показали, что SLAMF9 образует рецепторный комплекс в моноцитах и уровень его экспрессии увеличивается при воздействии стимулирующими агентами.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №14-04-31858).

ПОЛИМОРФИЗМ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНОМАХ ПАРТЕНИТ *HIMASTHLA ELONGATA*

Соловьева А.И.¹, Галактионов Н.К.^{1,2}, Подгорная О.И.^{1,2}

¹ФГБУН Институт цитологии РАН, ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

orcinuca@gmail.com

С развитием методов секвенирования выяснилось, что значительную часть геномов эукариот составляют повторяющиеся последовательности ДНК, которые традиционно принято делить на диспергированные и тандемные. Основную часть диспергированных повторов составляют мобильные элементы генома – транспозоны и ретротранспозоны. Мобильные элементы, или транспозоны – это последовательности ДНК, которые способны к перемещению и всячески взаимодействуют с хозяйским геномом. К сожалению, природа и функции транспозонов изучены крайне недостаточно, учитывая их количество в геноме. Для изучения функций транспозонов необходим подходящий модельный объект.

Объектом настоящей работы является *Himasthla elongata* из класса *Trematoda*. Трематоды имеют сложный жизненный цикл, который протекает со сменой животных-хозяев и чередованием партеногенетических и гермафродитных поколений. Ранее считали, что особи партеногенетического поколения – редии или дочерние спороцисты, происходящие от одной материнской особи и обитающие в первом промежуточном хозяине (моллюске), равно как и

производимые ими расселительные личинки – церкарии, генетически идентичны, так как являются продуктом диплоидного (апомиктического) партеногенеза. Тем не менее, на ряде видов трематод с помощью молекулярных методов показано, что у особей партеногенетического поколения можно наблюдать клональную изменчивость. Для изучения возможной роли транспозонов в формировании такого полиморфизма генотипировали клоны церкарий *H.elongata* методом S-SAP (Sequence Specific Amplification Polymorphism). В результате выявлен полиморфизм паттернов генотипирования церкарий. В полиморфных и консервативных фрагментах электрофоретического разделения продуктов S-SAP выявлены последовательности, имеющие высокую степень сходства с ретроэлементами CR1, RTE, gypsy и SR2. Дисперсное распределение CR1-подобных последовательностей в геноме *H.elongata* подтвердили методом флуоресцентной *in situ* гибридизации. Сигналы сконцентрированы в некоторых районах ядер и хромосом, но не образуют больших кластеров. Полиморфные фрагменты преимущественно содержат последовательности gypsy- и copia-подобных ретроэлементов.

Таким образом, на основании полученных результатов можно утверждать, что ретроэлементы генома *H.elongata* вносят вклад в клональную изменчивость церкарий при выявлении методом S-SAP.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА. ОПТИМИЗАЦИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИНИЙ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА И РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ПРОТОЧНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СОРТИРОВКИ КЛЕТОК НА ОСНОВНИИ ИХ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА (ММР)

Старостина И.Г., Иванова В.В., Ризванов А.А.

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

fairin@mail.ru

Объектом исследования являются культуры клеточных линий фибробластов человека с болезнью Паркинсона. Задачей проекта является разработка методов тестирования потенциальных лекарственных препаратов на основе метаболического стресса клеток и выявление эффективных комбинаций микро-РНК, генетических препаратов и химических веществ с потенциальным терапевтическим эффектом для лечения Болезни Паркинсона и других нейродегенеративных состояний спорадического характера.

Ввиду поставленной задачи, на данном этапе нами был осуществлен поиск наилучшей клеточной линии фибробластов, разработаны методы подготовки клеточных линий к скринингу *in vitro*, составлен план работ для скрининга *in vivo* (на модели грызунов) потенциальных лекарственных средств. Произведена теоретическая разработка концепции применения эпигенетического репрограммирования в контексте терапии болезни Паркинсона. Оптимизированы протоколы культивирования первичных культур клеток фибробластов от пациентов с болезнью Паркинсона и проведен их анализ.

Были оптимизированы условия культивирования и жизнеспособность фибробластов линии ВJ в среде с глюкозой и галактозой. Методом восстановления резазурина определяли жизнеспособность клеток. Данный метод позволяет рассчитать коэффициент пролиферации клеток, способных к последовательному клеточному делению. Резазурин фактически снижен в митохондриях, что представляет собой весьма полезный способ оценки митохондриальной метаболической активности. Было выбрано оптимальное количество клеток, необходимое для выживания и адаптации клеток в условиях отсутствия глюкозы и наличия галактозы, что являлось необходимым условием для усиления активности митохондрий. Параметры изменения содержания общей клеточной массы белка при учете времени культивирования определялись с использованием количественного анализа сульфородамина Б (СРБ). Сульфородамин Б связывается с основными аминокислотами клеточных белков. Колориметрическое определение количества обеспечивает оценку общей белковой массы, которая соотносится с количеством клеток.

Сравнивались значения культивирования фибробластов в стандартной питательной среде с глюкозой и в среде при отсутствии глюкозы и наличии галактозы.

Разработаны методы проточной флуоресцентной сортировки клеток на основании их митохондриального мембранного потенциала (ММР).

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС БЕЛКА P53 В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МЫШИ

Суворова И.И., Григораш Б.Б., Поспелов В.А.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

irsuorov@yandex.ru

Использование эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) в развитии биомедицинских технологий возможно благодаря их уникальным свойствам – плюрипотентности и самообновлению. Однако главной проблемой терапевтического применения ЭСК остается проблема генетической стабильности популяции этих клеток. На фоне неограниченной пролиферативной активности ЭСК, когда большая часть популяции находится в фазе синтеза, возникающие повреждения ДНК могут накапливаться в виде мутаций. P53-зависимая экспрессия p21/Waf1 в соматических клетках является одним из ключевых механизмов в поддержании стабильности генома, так как индуцируется арест клеточного цикла в фазах G1/S или G2/M. Ранее было показано, что ЭСК не останавливаются в своей прогрессии на границе фаз G1/S в ответ на повреждение ДНК, так как не способны в полной мере активировать сигнальный путь p53-p21/Waf1 по причине протеасомной деградации белка p21/Waf1. Мы предположили, что дисфункция сигнального пути p53-p21/Waf1 в ЭСК, вероятно, связана с поддержанием их недифференцированного состояния. Мы проанализировали последствия детектированной нами активности белка p53 на плюрипотентное состояние выживших ЭСК мыши на 1, 3 и 5 дни после облучения. Мы детектировали усиление транскрипции гена *p21/Waf1* на 3-й день после облучения и накопление его белкового продукта, что коррелирует с аккумуляцией мЭСК в фазе G1 клеточного цикла. Было показано, что активация p53 в облученных мЭСК приводит к постепенному снижению экспрессии ключевых генов плюрипотентности *Oct3/4* и *Nanog*, что сопровождается запуском транскрипции генов дифференцировки *sox17* и *afp*. Чтобы подтвердить зависимость наблюдаемых последствий облучения на плюрипотентные свойства мЭСК от активации белка p53, мы использовали специфичный фармакологический агент нутлин. Нутлин специфично ингибирует взаимодействие p53 с его негативным регулятором убиквитин-лигазой Mdm2, стабилизируя p53. Интересно, что накопление p21/Waf1 в мЭСК происходит уже через сутки после обработки нутлином и сопровождается постепенным увеличением доли клеток в G1 фазе и снижением их числа в фазе S как результат индукции блока G1/S. Интересно, что нутлин-опосредованная активация p53 приводит к значительному снижению экспрессии только фактора *Oct3/4*, что уже было достаточно для активации генов дифференцировки *sox17*, *gatab*, *afp*. Таким образом, каноническая роль p53 в соматических клетках как активатора блока G1/S в ЭСК не реализуется вследствие низкого уровня белка p21/Waf1. Соответственно, накопление p21/Waf1 наблюдается в дифференцирующихся ЭСК и предшествует восстановлению контрольной точки G1/S.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА SYM2 ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.), ОПРЕДЕЛЯЮЩЕГО СПЕЦИФИЧНОСТЬ СИМБИОЗА С КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Сулима А.С., Жуков В.А., Борисов А.Ю.

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

sulan555@mail.ru

Специфичность симбиоза бобовых растений и клубеньковых бактерий зависит от структуры сигнальной молекулы бактерий – Nod-фактора, – распознаваемой рецепторными киназами растения. В пределах вида горох посевной (*Pisum sativum* L.) существуют генотипы, отличающиеся по способности воспринимать структуру Nod-фактора, что служит причиной их повышенной избирательности к бактериальному симбионту. Одним из генов, контролирующих

данный признак, является *Sym2*, изучение которого было начато более 80-ти лет назад. На сегодняшний день определена локализация *Sym2* в I группе сцепления генома гороха, но неизвестными остаются его нуклеотидная последовательность, а также структура и функция его белкового продукта.

В настоящей работе идентифицирован ранее неизвестный ген гороха *LykX*, который по целому ряду признаков соответствует *Sym2*. Ген *LykX* находится в I группе сцепления и кодирует рецепторную киназу, потенциально способную связывать Nod-фактор. Аллельные состояния *LykX*, проявляющиеся на уровне белка в виде аминокислотных замен, ассоциированы с проявлением признака избирательности симбиоза. Таким образом, *LykX* является наиболее вероятным кандидатом на роль *Sym2*.

Для дополнительного описания роли гена *LykX* в симбиозе был произведён поиск мутантов по данному гену с применением методики TILLING (совместно с INRA-URGV, Франция). Выявлено 23 мутантные семьи, у 8-ми из которых мутация, согласно *in silico* предсказаниям (программа SIFT), нарушает функцию белкового продукта. В дальнейшем планируется осуществить анализ симбиотического фенотипа выявленных мутантов и провести тест на аллелизм между *LykX* и *Sym2*. Положительный результат теста станет финальным подтверждением гипотезы о соответствии *LykX* гену *Sym2*.

Исследование выполнено при поддержке грантов Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (14-04-32289, 15-29-02737).

ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИИ НА НУКЛЕОСОМНОЙ ДНК МЕТОДОМ spFRET

Султанов Д.Ч., Чертков О.В.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

sultanov.daniel.mol@gmail.com

ДНК эукариот организована во множество нуклеосом, которые определяют первичную доступность генов для транскрипции. Такая нуклеосомная организация ДНК является важной мишенью эпигенетической регуляции экспрессии генов. Понимание изменений ДНК-белковых взаимодействий в нуклеосоме является ключевым фактором для выяснения механизмов работы генетического аппарата.

Для качественного изучения транскрипции собирались модельные нуклеосомы, состоящей из октамера гистоновых белков, собранных на ДНК матрице - высокоаффинной к гистонам последовательности $\delta 603$, лигированной с T7A1 промотором. Промотор лишен -T (1-45 п.н.) и -C (1-11 п.н.) нуклеотидов в соответствующих участках; это позволяет получить остановленные комплексы в -37 положении матрицы (нулевое положение - точка отсчета - вход в нуклеосомный кор) с РНК полимеразой *E.coli*, а также -5 комплексы путем добавления dCTP, и полное прохождение через нуклеосому последующим добавлением TTP в реакционную смесь, соответственно. В матрицу были введены флуоресцентные метки: донор Cy3 (+91 положение) и акцептор Cy5 (+13 положение), которые эффективно сближались в полностью собранной нуклеосоме в проксимальной ее части (относительно промотора). Изменения во время транскрипции изучались с помощью метода spFRET (single-particle Förster Resonance Energy Transfer). Контроль в экспериментах - нуклеосома без РНК полимеразы.

В комплексах -37 и -5 наблюдалось заметное падение сигнала FRET от Cy5 в высокой области при длине волны 635-800 нм относительно контроля. При наличии в смеси всех четырех дезоксинуклеотидов и полном прохождении полимеразы через нуклеосомный кор наблюдалось еще большее падение FRET. Обратная картина наблюдалась в области более низкого FRET, где доля нуклеосом с сигналом в этой области была выше в остановленных комплексах, чем в контроле.

Изменение сигнала FRET говорит об изменении расстояния между метками Cy3 и Cy5. Так, в случае его уменьшения в комплексах -37 и -5, это указывает на расхождение меток из-за изменений в белковом коре и частичное разматывание суперспирали ДНК, соответственно. Еще большее уменьшение FRET при полной транскрипции согласуется с моделью частичной потери димера H2A-H2B с формированием гексасомы, где суперспираль ДНК представлена в менее компактной форме. Таким образом, видно динамическое изменение ДНК-белковых

взаимодействий во время транскрипции, а данную модельную систему нуклеосом *in vitro* можно считать адекватной для оценки таких изменений.

КАРТИРОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СТАРТОВ ТРАНСКРИПЦИИ В ОПЕРОНАХ, КОДИРУЮЩИХ ГЕНЫ АВС-ТРАНСПОРТЕРОВ *E. COLI*. ВНУТРИВИДОВЫЕ И МЕЖВИДОВЫЕ ПАРАЛЛЕЛИ

Сухаричева Н.А.^{1,2}, Маркелова Н.Ю.¹, Озолинь О.Н.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

natasha-sukharicheva@yandex.ru

АВС-транспортеры являются жизненно важными системами для функционирования бактериальной клетки, включая транспорт широкого ряда субстратов, в том числе сахаров, аминокислот, полиаминов и катионных олигопептидов.

В настоящей работе мы проанализировали распределение сайтов инициации транскрипции оперонов *E. coli*, кодирующих АВС-транспортеры с общей схемой организации генов. С помощью вычислительного алгоритма PlatProm были предсказаны сайты инициации транскрипции у восьми оперонов - *livKMHGF*, *nikABCDE*, *potABCD*, *malEGF*, *fecABCDE*, *ferBDGC*, *sapABCDF* и *oppABCDF*. Во всех случаях, выявлены потенциальные старты инициации транскрипции в кодирующей части второго гена оперона. Эти данные указывают на возможность независимой транскрипции генов внутри оперона.

Гипотеза независимой регуляции инициации транскрипции внутри оперонов, кодирующих АВС-транспортеры также подтверждается данными анализа размеров межгенных областей *oppA/oppB* и *oppB/oppC* оперона *oppABCDF* как у грамотрицательных, так и у грамположительных бактерий. Согласно полученным данным размер межгенной области *oppA/oppB* составляет примерно 77 нп у грамотрицательных бактерий и 127 нп у грамположительных, что допускает возможность размещения промотора, контролирующего экспрессию *oppB*.

С помощью классических методов исследования транскрипции *in vitro*, были выявлены стартовые точки транскрипции внутри межгенной области *oppA/oppB*. Данные обратной транскрипции с использованием геноспецифичных праймеров, указывают на наличие инициации транскрипции в положении +18 относительно иницирующего кодона гена *oppB*. Не исключено, что укороченный РНК-продукт, иницируемый с внутригенной области *oppB* является матрицей для трансляции белка OppC. Однако, в присутствии катионного олигопептида протамина (40 мкг/мл) выявляется стартовая точка транскрипции в положении -53 (± 2 нп), в межгенной области *oppA/ oppB*, что может обеспечивать экспрессию гена *oppB*.

Данные количественного ПЦР для генов *oppA*, *oppB* и *oppC* *E. coli* K12 MG 1655 выявили существенную диспропорцию в уровне их экспрессии (относительное содержание мРНК: *oppA* ($\Delta C_t = 0,4$) > *oppC* ($\Delta C_t = 3,7$) > *oppB* ($\Delta C_t = 13,4$), (ΔC_t рассчитана по отношению к гену «домашнего хозяйства» *groB*). Таким образом, внутриоперонные гены *oppB* и *oppC*, очевидно, подвержены дополнительной регуляции независимо от первого гена оперона.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России № 2014/281.

КЛОНИРОВАНИЕ И ОЧИСТКА БЕЛКА GLNK МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ *LACTOBACILLUS BREVIS*

Тарасов Н.В., Каюмов А.Р., Исхакова З.И.

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

2ni5so10@mail.ru

В настоящее время азотный метаболизм молочнокислых бактерий *Lactobacillus* практически не исследован, несмотря на их широкое применение в производстве молочнокислых продуктов, квашении и силосовании. Таким образом, анализ молекулярных механизмов регуляции азотного метаболизма в клетках лактобацилл является актуальной

задачей. В единичных работах имеются данные о некоторых аспектах особенностей азотного метаболизма лактобацилл. Предварительный анализ геномов *Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus buchneri* выявил наличие гена белка GlnK, гомолог которого в клетках бактерий представляет собой небольшой регуляторный белок, принадлежащий к семейству РII белков, участвующих в регуляции азотного метаболизма. В клетках *B. subtilis* белок GlnK, по-видимому, регулирует активность мембранного белка AmtB и фактора транскрипции TnrA играющего ведущую роль в контроле активности генов азотного метаболизма у *B. subtilis*.

Целью работы явилось клонирование и очистка белка GlnK молочнокислых бактерий *Lactobacillus brevis*. Для этого ген *glnK* из *L. brevis* был клонирован в экспрессионный вектор pASK IBA3 с получением плазмиды pASK-LbrGlnK для дальнейшей гиперпродукции белка GlnK с аффинным стрептактиновым тагом. Белок очищен методом аффинной хроматографии на Strep-tactin сефарозе, в результате чего был получен препарат исследуемого белка. Белок был очищен до электрофоретической гомогенности, что было подтверждено электрофорезом в денатурирующих условиях в 15% полиакриламидном геле. Белок GlnK в *B. subtilis* находится в клетке в виде тримера. Для белка из *L. brevis* также была показана способность к тримеризации методом гельфильтрации на колонке SuperDex 200 10/300 GL. В настоящее время представляет интерес исследование эффекторных молекул белка GlnK – регуляторов его активности среди клеточных метаболитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-32317мол_а.

ВВЕДЕНИЕ В ГЕНОМЫ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА, ПОВЫШАЮЩЕГО УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАМОРОЗКАМ

Тимошенко А.А.¹, Шульга О.А.², Гапоненко А.К.^{1,3}

¹ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, ²Центр «Биоинженерия» РАН, ³ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

timoshenko.alekseevna@gmail.com

В РФ свыше 2/3 посевов пшеницы сосредоточено в регионах суровых зимних природных условий, для которых характерны частые заморозки весной. Повысить устойчивости продуктивных отечественных сортов к пониженным температурам можно путем введения в геном пшеницы и экспрессии транскрипционных факторов семейства *DREB* методами генетической инженерии. Показано, что экспрессия *TaDREB3* повышает холодостойкость ячменя. Цель нашей работы - отработать условия эффективной регенерации и биобаллистического введения гена *TaDREB3* под контролем холодоиндуцируемого промотора *WRKY71* в высокопродуктивные сорта российской селекции. Кассета экспрессии *WRKY71:TaDREB3* в составе бинарного вектора нами получена от д-р. С. Лопато (австралийский центр функциональной геномики). Т.к. данный вектор содержит в качестве селективного ген устойчивости к гигромицину, было проведено переклонирование кассеты экспрессии *WRKY71:TaDREB3* в плазмидный вектор pBS для использования при биобаллистической трансформации. Известно, что частота коинтеграции в геном при биобаллистической трансформации двумя конструкциями составляет порядка 80%. Поэтому мы использовали одновременно две плазмиды: psGFP/BAR - с селективным геном *bar*, обеспечивающим устойчивость к гербициду фосфинотрицину (BASTA), и геном маркерного белка *GFP*, и *pBS-TaDREB3* - с кассетой *WRKY71/TaDREB3*. В результате проделанной работы была отлажена регенерация сортов мягкой озимой пшеницы в условиях *in vitro*. Нами получены морфогенные каллусы пшеницы различных сортов, компетентные к регенерации и трансформации путем культивирования и селекции клеточных линий из незрелых зародышей. Все устойчивые к фосфинотрицину регенеранты проверили на наличие гена *bar* и *WRKY71/TaDREB3* методом ПЦР. Достигнутая эффективность генетической трансформации составила 10%. Анализ наличия и экспрессии гена *TaDREB3* продолжается.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИГЕНА GP51 ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПОМОЩЬЮ ЛИНИЙ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Тургимбаева А.М., Хасенов Б.Б.

РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, Астана, Казахстан

aigerim6119@gmail.com

Лейкоз КРС - инфекция опухолевой природы, вызываемая вирусом семейства *Retroviridae*, подсемейства *Oncoviridae* типа С. Болезнь проявляется лимфоцитозом или опухолегенезом, больные животные погибают. Ранняя диагностика инфекции основана на серологическом выявлении антител против антигенов р24 и gp51, что позволяет искоренять лейкоз КРС и контролировать распространение вируса. Современные способы получения диагностических антигенов базируются на использовании технологии рекомбинантных ДНК. Для разработки тест-системы необходим антиген максимально близкий по структуре к природному аналогу. Нами был получен рекомбинантный белок р24 в клетках *E.coli*, но бактериальная экспрессионная система не подходит для белка gp51, представляющего собой гликопротеин. Использование экспрессионной системы дрожжей *Pichia pastoris*, *Pichia methanolica*, *Saccharomyces cerevisiae* имеет свои минусы, для них характерно гипергликозилирование. Это не всегда благоприятно сказывается на финальной конформации и антигенных свойствах интересующего белка. В качестве альтернативы могут выступать клетки млекопитающих, для которых характерно наличие полного спектра посттрансляционных модификаций, включая сложное N-, O-гликозилирование, фосфорилирование и гамма-карбоксилирование. В связи с этим клетки млекопитающих имеют наиболее подходящую систему экспрессии белка gp51.

Цель работы - получить рекомбинантный антиген gp51 вируса лейкоза КРС с помощью линий клеток млекопитающих.

В результате ПЦР-скрининга 14 образцов ДНК крови коров, предположительно больных лейкозом, с помощью специфичных олигонуклеотидов был выявлен ген вируса лейкоза протяженностью 906 п.н. В результате сравнения нуклеотидной последовательности полученного гена и референсного гена с базы данных NCBI (GenBank: FM209472.1) был выявлен полиморфизм казахстанского штамма. Установлено 12 аминокислотных замен: 29R→Q, 48A→T, 73A→P, 74K→R, 82S→F, 86Y→C, 121R→H, 134N→D, 146S→F, 181Q→H, 254S→L, 906S→N.

В качестве экспрессионной системы была использована клеточная линия HeLa S3. Ген *gp51* был клонирован в вектор pOZ-C по сайтам рестрикции XhoI и NotI. Сборка вирусов, содержащих плазмиду pOZ-C/gp51, осуществлялась клетками линии НЕК293 (100000 кл/мл) после кальций-фосфатной трансфекции. Для получения рекомбинантного gp51 антигена в HeLa S3, клетки были подвержены трансдукции вирусными частицами, наработанных в клетках линии НЕК293. Отбор трансдуцированных клеток осуществлялся с помощью магнитных частиц Dynabeads CD25. После трехэтапной селекции получена генетически модифицированная клеточная линия HeLa S3, продуцирующая рекомбинантный белок gp51.

СРАВНЕНИЕ АКТИВНОСТЕЙ ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧНОГО ПРОМОТОРА И ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ С ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ В СТРОМЕ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тюлькина Д.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

tyulkina.dina@mail.ru

Микроокружение опухолевых клеток, представленное фибробластами и другими типами иммунных и стволовых клеток, играет важную роль в развитии злокачественных новообразований, участвует в росте и метастазировании раковых клеток, выступает в качестве барьера при доставке противоопухолевых средств. Его использование в качестве терапевтической мишени перспективно особенно в терапии опухолей с большим количеством стромальных элементов. Обычно при генной терапии опухолей применяют транскрипционный

контроль экспрессии трансгена, осуществляемый опухолеспецифическим промотором. Мы сравнили активность такого промотора (*Survivin*) с активностью промоторов генов, для которых ранее была показана повышенная экспрессия в строме опухоли поджелудочной железы. Были созданы конструкции, несущие ген-репортер люциферазы под контролем одного из промоторов (промотор гена *Survivin* или “стромальных” промоторов генов *IGFBP2*, *JAG1* и *SDF1*). Далее провели *in vitro* исследование активности выбранных промоторов путем трансфекции клеточных линий человека, включающей линии рака поджелудочной железы – PANC-1, MIA PaCa-2, AsPC-1, рак легкого Calu-1 и культуры фибробластов поджелудочной железы человека IVP-9TS.

Мы показали, что участок промотора гена *IGFBP2* [-636;-2] работает сопоставимо с промотором SV40 только в двух клеточных линиях – PANC-1 и AsPC-1, его активность сравнима с промотором *Survivin* в клеточной линии PANC-1. В опухолевых фибробластах активность промотора *IGFBP2* примерно в 3 раза выше активности промотора *Survivin*. Промоторы генов *JAG1* и *SDF1* проявляют минимум в два раза меньшую активность по сравнению с промотором *IGFBP2* в линиях опухолей поджелудочной железы, при этом промотор гена *SDF1* практически не активен в опухолевых фибробластах, а активность промотора *JAG1* составляет 60% от активности промотора *IGFBP2* и на 50% выше активности гена *Survivin* в фибробластах поджелудочной железы.

Таким образом, исследованные “стромоспецифические” промоторы в целом проявляют достаточно слабую активность в клетках опухолей поджелудочной железы по сравнению со стандартно используемым опухолеспецифическим промотором, однако в опухолевых фибробластах некоторые из них (*IGFBP2* и *JAG1*) более эффективны. Большое сродство “стромальных” промоторов к клеткам опухолевого микроокружения может дать им некоторые преимущества при использовании в терапии опухолей с высоким стромальным содержанием.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПШЕНИЦЫ

Увашов А.О., Тагиманова Д.С., Новаковская А.П., Хапилина О.Н.,
Купешев Ж.С., Абдрашева К.К.

РГП «Национальный центр биотехнологии» РК, Астана, Казахстан

gemeni-kz@mail.ru

Чем больше и разнообразнее источников устойчивости включается в селекцию, тем больше возникает возможностей получения новых форм растений с обогащенным генофондом. Проблема сохранения биологического разнообразия на уровне генов является весьма актуальной. Одной из задач является выбор подходов, технологий и критериев оценки генетического разнообразия. К приоритетным направлениям науки относятся развитие технологий анализа геномов растений. Формирование коллекции линий пшеницы является одним из основополагающих этапов по изучению генетического разнообразия пшеницы. Была сформирована коллекция генетически удаленных форм и видов пшеницы из географически удаленных регионов мира. Виды были получены из генетических банков – ВИРа и коллекции USDA. Эта коллекция включает сорта и линии, произрастающие в контрастных природных условиях и несущие генетически разнообразные аллельные формы генов. С помощью технологий секвенирования можно идентифицировать новые аллели генов и генных областей, как у индивидуальных линий, так и у диких форм видов пшеницы. Современные технологии секвенирования ДНК позволяют быстро и дешево полностью секвенировать последовательность нескольких геномов индивидуальных линии данного вида. Кроме того, до сих пор имеется мало информации о природе различий в аллельных вариантах важнейших генов пшеницы, включая изоферменты, гены устойчивости к болезням и стрессам, гены запасных белков и т.д. Сравнительный анализ между этими различными геномами позволил определить консервативные участки генов, которые могут быть исследованы с использованием молекулярных (Conserved Orthologous Set) маркеров для выявления генов-кандидатов, кодирующих признаки, которые хорошо сохраняются между видами. Использование параллельного секвенирования генетически отдаленных линий, содержащих весь набор

аллельных вариантов генома данного вида, позволит нам понять причину полиморфизма на белковом уровне и использовать эти знания для разработки технологий быстрой и полной идентификации селекционных линий по всем исследуемым генам одновременно. Проведен молекулярно-генетический сравнительный анализ, который выявил разнообразие аллельных вариантов коллекции видов семейства Triticeae: пшеницы, двузернянки, эгилопс, тритикале и ржи. Скрининг коллекции видов семейства Poaceae позволил получить первичную информацию, которая может быть использована для разработки стратегии маркерной селекции хлебных злаков.

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА PIF1 В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SDH2-3 СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ФИТОХРОМНОЙ СИСТЕМОЙ

Покусина Т.А., Карабутова Л.А., Лаптева А.А., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т.
ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

rybolov@mail.ru

Координация функционирования фотосинтеза и цикла Кребса, основных энергетических путей в зеленых листьях растений, представляет большой научный интерес. Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, КФ 1.3.99.1), как маркерный фермент цикла Кребса, может играть важную роль в данном процессе. Таким образом, исследование механизмов световой регуляции сукцинатдегидрогеназы является актуальной проблемой и требует более детального изучения.

Объектом исследования служили листья 14-ти дневных проростков кукурузы (*Zea mays* L.), выращенные гидропонным способом при температуре 22°C. Для облучения растений красным и дальним красным светом использовали светодиоды с соответствующей областью испускания. Пробы для дальнейшего анализа отбирались через 3 часа с момента облучения.

В ходе работы выявлена зависимость содержания мРНК гена *sdh2-3* в листьях кукурузы от состояния фитохромной системы. Активная форма фитохрома вызывает уменьшение скорости экспрессии исследуемого гена, что может являться механизмом регуляции цикла Кребса. Применение специфического ингибитора кальциевых каналов показало, что изменение скорости транскрипции гена *sdh2-3* в ядрах клеток связано с перераспределением свободных катионов кальция между компартментами клетки. Показано, что внутриядерным фактором, осуществляющим регуляцию экспрессии исследуемого гена в листьях кукурузы, выступает PIF1, контролирующей скорость присоединения РНК-полимеразы в промотору гена *sdh2-3*.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-31664.

ПОИСК МУТАЦИЙ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ

Федорина Я. В., Жуков В. А., Штарк О.Ю., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.
ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

f.jaroslava@gmail.com

Мутационный анализ является мощным инструментом для изучения растительных симбиотических генов, их структуры и функций. На горохе посевном (*Pisum sativum* L.) получена обширная коллекция мутантов с нарушениями развития азотфиксирующих клубеньков и арбускулярной микоризы. Для идентификации последовательности генов, затронутых мутациями, используется подход, основанный на поиске генов-кандидатов. В лаборатории было проведено секвенирование транскриптома клубеньков гороха, и полученные данные позволяют быстро идентифицировать последовательности любых генов гороха, гомологичных генам модельных бобовых растений.

На основании детального фенотипического анализа развития арбускулярной микоризы у симбиотических мутантов гороха ген *Vapyrin* люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) был выбран как вероятный кандидат на роль гена гороха *PsSym36*. Транскрипт,

гомологичный *MtVpy*, был идентифицирован в данных секвенирования транскриптома, и на основе его последовательности были подобраны праймеры для амплификации рамки считывания *PsVpy*. Секвенирование последовательности гена *PsVpy* у линий гороха RisNod24, RisNod26 и исходной линии Finale позволило идентифицировать нуклеотидные замены в рамке считывания данного гена.

Ранее было выдвинуто предположение о гомологии генов *MtEFD* люцерны и *PsSym40* гороха. Последовательность транскрипта, гомологичного *MtEFD*, также была идентифицирована и использована для дизайна праймеров. В результате в самом начале рамки считывания гена *PsEfd* у линии гороха SGEFix-6 (*Pssym40*) была найдена нуклеотидная замена, приводящая к возникновению стоп-кодона вместо третьей аминокислоты (Arg) белка Efd.

Таким образом, информация о последовательностях генов, экспрессирующихся в клубеньках, полученная при секвенировании транскриптома, значительно облегчает работу по идентификации мутаций в *Sym*-генах гороха.

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (НШ-4603.2014.4), РФФИ (13-04-01702-а, 13-04-01703-а и 14-04-01442-а) и РФФИ 14-24-00135.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБНОСТИ ИНСУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ ZIPIC, PITA, ZW5 D.MELANOGASTER ОБЕСПЕЧИВАТЬ ДИСТАНЦИОННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Федотова А.А., Кырчанова О.В., Георгиев П.Г.

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

annafedotova@list.ru

Инсуляторами называют регуляторные элементы способные блокировать энхансер - промоторные связи и служить барьером между транскрипционно-активным хроматином и гетерохроматином. Однако, все большее количество данных в последнее время указывает на то, что инсуляторы могут осуществлять более тонкую регуляцию в контексте генома, в частности - выступать посредниками в осуществлении контактов между удаленными регуляторными элементами, такими как энхансеры и промоторы. Свойства инсуляторов зависят от присутствия на них инсуляторных белков, большая часть которых в настоящее время не изучена.

В данной работе исследовалась способность к специфичным дистанционным взаимодействиям инсуляторных белков ZIPIC, Pita, zw5. Исследуемые белки имеют сходный план строения: N-концевой ZAD домен и C-концевой домен с цинковыми пальцами C2H2 типа, отвечающий за специфичное связывание с ДНК. Сайты связывания этих белков в геноме *D.melanogaster* колокализуются с инсуляторным белком CP190, а в трансгенных конструкциях проявляют барьерную и энхансер-блокирующую активность. На трансгенных линиях дрозофилы с помощью модельной системы с использованием дрожжевого активатора GAL4, гена yellow, отвечающего за окраску кутикулы, и white, отвечающего за окраску глаз, мы показали способность гомологичных пар сайтов связывания белков ZIPIC, Pita и zw5 к функциональным дистанционным взаимодействиям. Вместе с этим дистанционное взаимодействие между гетерологичными парами (ZIPIC – Pita, ZIPIC - zw5, Pita - zw5) не происходит.

Аналогично с помощью дрожжевой двугибридной системы мы продемонстрировали способность изучаемых белков к гомодимеризации и показали, что за эту функцию отвечают ZAD домены белков. Вероятно, что данная структурная особенность лежит в основе специфичности дистанционных взаимодействий белков с ZAD доменами.

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛАТА НАТРИЯ НА СВЯЗЫВАНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SGP R С РЕГУЛЯТОРНОЙ ОБЛАСТЬЮ ОПЕРОНА ДЕГРАДАЦИИ САЛИЦИЛАТА

Филатова И.Ю.^{1,2}, Бякина Е.Р.², Музафаров Е.Н.², Захарова М.В.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино; ²ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет, Тула, Россия

irafilatova24@gmail.com

Салициловая кислота (СК) и ее соли, салицилаты, широко распространены в окружающей среде. Эти химические соединения являются компонентами аспирина и других болеутоляющих препаратов. Они подавляют жизнедеятельность и рост микроорганизмов, которые используются на очистных сооружениях и перерабатывают органические компоненты стоков, что приводит к попаданию необработанных стоков в окружающую среду. Помимо этого, СК является ключевым метаболитом микробной деградации таких опасных загрязнителей, как полиароматических углеводороды (нафталин, фенантрен, антрацен, карбарил и т.д.), которые образуются и выделяются при переработке нефти, сжигании нефтепродуктов и угля. СК в больших дозах токсична для человека, а накопление СК и ее солей опасно не только для здоровья млекопитающих, но и для биоценоза в целом.

Известны два пути бактериальной деградации салицилата. Первый путь, который контролируется «классическим», детально исследованным, *nah2*-опероном – трансформация салицилата до интермедиатов цикла Кребса через образование катехола. Второй путь – утилизация салицилата через окисление гентизата при помощи салицилат 5-гидроксилазы. Штамм *Pseudomonas putida* AK5, который относится к γ -протеобактериям, первый описанный природный штамм, в котором присутствуют как «классический» *nah1*-оперон, так и *sgp*-оперон (*salicylate-gentisate pathway*). Наиболее изучены регуляторные белки NagR «гентизатного» пути представителей β -протеобактерий, штаммов *Ralstonia sp. strain* U2 и *Polaromonas naphthalenivorans* CJ2, гомологичные NahR белкам *nah*-оперонов деградации салицилата штаммов *P.putida* G7 (pNAH7) и *P. putida* NCIB9816-4 (pDTG1), при этом о регуляции транскрипции генов катаболизма салицилата известно крайне мало.

Транскрипционный фактор SgpR, принимающий участие в регуляции транскрипции *sgp*-оперона, чувствителен к присутствию салицилата натрия в окружающей среде. В условиях высокой концентрации белка SgpR связывание с регуляторной областью *sgp*-оперона и снижение экспрессии гена *sgpR* происходит и в отсутствие салицилата. Однако подобные условия далеки от физиологически нормальных и имеет смысл рассматривать ДНК-белковые взаимодействия в условиях содержания регуляторного белка в растворе, численно равного константе диссоциации ДНК-белкового комплекса.

В отсутствие салицилата натрия константа диссоциации комплекса ДНК-белок SgpR составляет $\approx 4 \times 10^{-8}$ М. При добавлении салицилата натрия в реакционную смесь, константа диссоциации снижается до $\approx 2 \times 10^{-8}$ М, что согласуется с биологическим смыслом присутствия индуктора.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК ПРИ ОТВЕТЕ НА ТЕПЛОВЫЙ ШОК У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Фуников С.Ю.¹, Рязанский С.С.², Канапин А.³, Зеленцова Е.С.¹, Евгеньев М.Б.¹,
Зацепина О.Г.¹

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, ²ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ³University of Oxford, UK

sergeifunikov@mail.ru

Любая биологическая система стремится к поддержанию динамического равновесия посредством скоординированных биохимических реакций. Однако, даже к кратковременному изменению условий окружающей среды организм вынужден адаптироваться, корректируя базовую программу экспрессии генов. Одним из механизмов, с помощью которого клетка может быстро изменить клеточный метаболизм является регуляция экспрессии и

функционирования микроРНК. Кроме того, спонтанные стрессовые воздействия являются индукторами геномной нестабильности, так как могут приводить к амплификации и транспозициям мобильных генетических элементов (МЭ). Остается не ясно как, в условиях стресса, функционирует система пиРНК, препятствующая в норме активации МЭ. Целью данной работы является изучение особенностей регуляции экспрессии микроРНК и пиРНК при воздействии теплового шока (ТШ), а также установление роли основного стрессового белка HSP70 в формировании адаптивного профиля экспрессии генов у *Drosophila melanogaster*.

Мы провели анализ экспрессии микроРНК после воздействия ТШ и определили, что ТШ приводит к формированию сходного паттерна экспрессии микроРНК у всех изученных нами линий. Мы предполагаем, что само по себе влияние ТШ не вызывает индукции микроРНК, таким образом, стресс-индуцированная регуляция экспрессии микроРНК происходит на пост-транскрипционном уровне и, вероятно, коррелирует с экспрессией генов-мишеней данных микроРНК. Мы также установили, что в клетках зародышевой ткани *Drosophila melanogaster* воздействие ТШ может модулировать транскрипцию дунитевых пиРНК-кластеров. Наши данные подчеркивают, что ключевой особенностью адаптации организма к стрессовым условиям является обеспечение надлежащего уровня экспрессии генов, в том числе с помощью регуляции экспрессии микроРНК.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ FBLN5 И LOXL1 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПРОЛАПСА ТАЗОВЫХ ОРГАНОВ

Хаджиева М.Б.

ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

m.had@mail.ru

Пролапс тазовых органов (ПТО) у женщин – это распространенное урогинекологическое заболевание, характеризующееся опущением и выпадением органов малого таза. Основной причиной развития ПТО является перерастяжение и повреждение тканей связочного аппарата матки и тазового дна в процессе родов через естественные родовые пути. Родовые травмы, крупный размер плода и неоднократные роды повышают риск развития данной патологии. В настоящее время наряду с естественными родами доказана значимость и наследственного фактора, что подтверждается наличием семейного ПТО, частота которого может достигать 30% в структуре заболеваемости. Нами была изучена связь полиморфных вариантов гена фибулин-5 (FBLN5) и гена лизилоксидазоподобного белка (LOXL1), участвующих в синтезе и соединении эластических волокон. В исследовании приняли участие 210 женщин с ПТО II-IV стадии по системе POP-Q (основная группа) и 292 без генитального пролапса (контрольная группа); средний возраст в группах 57.65 ± 10.80 и 57.25 ± 12.70 лет, соответственно. Выбор сайтов для ассоциативного исследования ПТО был основан на использовании ресурса HaploView (version 4.2) для подбора целевых (tag) SNP с целью покрытия всего гена. Методом тетра-праймерной аллель-специфической ПЦР пациентки были прогенотипированы по девяти tagSNP гена FBLN5 и трем tagSNP гена LOXL1; все изученные варианты находились в состоянии равновесия по Харди-Вайнбергу. При статистической обработке всей выборки был выявлен протективный rs12589592-A и рисковый rs2018736-C аллели (рецессивная модель, $P=0.0026$, OR=0.42, 95% ДИ:0.24-0.75; аддитивная модель, $P=0.032$, OR=1.37, 95% ДИ:1.03-1.84, соответственно) для гена FBLN5, а также рисковый rs2304719-T аллель для гена LOXL1 (доминантная модель, $P=0.0025$, OR=1.87, 95% ДИ:1.24-2.810). Кроме того, нами была обнаружена связь аллелей rs12586948-A, rs2018736-C, rs12589592-A, rs2474028-T гена FBLN5 и rs2304719-T гена LOXL1 с развитием ПТО в стратах, формируемых по основным факторам риска (наличие родовых травм, макросомия плода и неоднократные роды). В группе с родовыми травмами выявлен гаплотип повышенного риска развития ПТО rs12586948(A)–rs2018736(C)–rs12589592(G)–rs2474028(T) гена FBLN5 с частотой встречаемости 16.12% ($P=0.0079$, OR=3.51, 95% ДИ:1.40-8.78). Таким образом, скрининг выявленных рисковых и протективных аллелей и поиск новых позволит диагностировать риск развития ПТО у женщин репродуктивного возраста.

РОЛЬ РОМБОИДНОЙ ПРОТЕАЗЫ В СЕКРЕЦИИ БЕЛКОВ «ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА» *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Чаленко Я.М.¹, Никифорова А.Л.¹, Сурин А.К.², Ермолаева С.А.¹

¹ФГБУ Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва;

²ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

yaroslavazaka@yandex.ru

Грамположительная бактерия *Listeria monocytogenes* относится к числу факультативных внутриклеточных паразитов. Развитие инфекционного процесса требует от бактерий не только продукции факторов патогенности, влияющих на структуры и функции макроорганизма, но и существенных перестроек общего метаболизма. Изучение механизмов адаптации в ходе инфекционного процесса, связанных с изменениями общего метаболизма бактерий, имеет существенный фундаментальный интерес для понимания механизмов становления патогенности как явления. Предыдущие работы и «in silico» анализ показали, что освобождение ряда факторов патогенности листерий в окружающую среду связано с процессингом трансмембранных доменов и в геноме листерий есть только три класса протеаз с внутримембранным типом активности: сигнальные протеазы I и II типа, ранее не изучавшиеся ромбоидная и S2P протеазы. Ромбоидная протеаза относится к семейству интегральных сериновых протеаз, играющих ключевую роль в сигналинге событий в мембранном бислое. Роль ромбоидной протеазы более детально изучена у *Drosophila melanogaster*, однако, для остальных эукариотических организмов и бактерий роль протеазы изучена недостаточно.

1) Получены инсерционный мутант в гене *lmo1337*, кодирующем ромбоидную протеазу, и ревертант для доказательства отсутствия полярного эффекта в нижележащем гене.

2) Сопоставлены профили секретируемых, внутримембранных и внутриклеточных белков *inslmo1337*, штамма дикого типа (wt) и ревертанта с помощью SDS-PAGE электрофореза. Мутация в гене ромбоидной протеазы приводит к изменению в профилях мембран-ассоциированных и секретируемых белков *L. monocytogenes*.

3) Идентифицированы белковые полосы, которые отличались в профилях у *inslmo1337*, wt и ревертанта с помощью MALDI-TOF масс спектрометрии: факторы элонгации Tu и G, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GapA) и дигидролипоамидацетилтрансфераза.

4) Получен очищенный рекомбинантный белок GapA и антитела к нему. Методом иммуноблота определено снижение концентрации GapA в секретируемой и внутримембранной фракции для *inslmo1337* по сравнению с wt и ревертантом.

5) Показано снижение экспрессии факторов патогенности (лецитиназа, листериолизин O, фофолипаза C): зона лецитиназной активности для *inslmo1337* – 11мм, для wt – 16 мм; гемолитическая активность для *inslmo1337* – 10^{-5} , для wt – 10^{-6} . Эффективность инвазии в клетки эпителия почки Нек293 для *inslmo1337* в два раза меньше, чем для wt (0,06% и 0,11% соответственно).

МОДЕЛЬ АКТИВАЦИИ PH ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РЕЦЕПТОРА IRR (INSULIN RECEPTOR-RELATED RECEPTOR)

Чачина Н.А.^{1,2}, Серова О.В.¹, Деев И.Е.¹, Петренко А.Г.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ²ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

Natali.chachina@gmail.com

Тирозинкиназные рецепторы играют ключевую роль в функционировании организма: регуляция пролиферации и дифференцировки клеток, клеточная миграция и метаболизм, а также участие в контроле клеточного цикла. В настоящее время известно порядка 20ти семейств данных рецепторов, в том числе инсулиновое, в состав которых входят рецепторы инсулина и инсулино-подобного фактора роста, а также инсулин рецептор-подобный рецептор (IRR). В нашей лаборатории показано, что в отличие от своих гомологов по семейству

рецептор IRR является сенсором слабощелочной среды. В этой работе мы картировали аминокислотные остатки, влияющие на активацию IRR и выдвинули двух-сайтовую модель активации этого рецептора.

Нами были получены мутантные рецепторы IRR с одиночными точечными и неодинокими мутациями на основании их эволюционной консервативности. Анализ их активности производился на основе модифицированного нами способа автофосфорилирования *in vitro*. Нами получены конструкции мутациями на аланин следующих остатков M406, V407, D408, R436, V437 и T582. Данные мутации вносились в фибронектиновые повторы и домен L2. Также мы получили химерные конструкции с заменами участков или домена в IRR на гомологичные участки из рецептора инсулина. Так мы заменили СТ-пептид на конце альфа-субъединицы, первый фибронектиновый повтор (FnIII), второй и третий FnIII, а также петлю от A646 до N715. Мы показали, тройная мутация M406, V407, D408 вызывает падение активности до $28 \pm 10\%$ от активности дикого IRR, а одиночная замена T582 уменьшала активность на 40%. Остальные мутации не вызывали большого негативного эффекта. Полная замена первого фибронектинового повтора FnIII-1 приводила к падению активности на 60%, тогда как замена сразу второго и третьего - вела к полной потере pH чувствительности химерным рецептором. Замена петли от A646 до N715 также приводила к потере активности на 40%. Интересно, что замена второго и третьего FnIII вела к увеличению массы бета-субъединицы от 68 до 100 kDa, что соответствует размерам гликозилированной формы инсулинового рецептора.

По этой причине были получены конструкции с точечными мутациями на аланин по N600, N612, N630, N652 в химерном белке с заменой второго и третьего FnIII. Было показано, двойная мутация N600, N612 позволяет рецептору активироваться под действием щелочи. Кроме того, четвертичная мутация N600, N612, N630, N652 приводила к снижению размера до 95 kDa.

Таким образом, мы показали, что pH чувствительные сайты разбросаны вдоль всего внеклеточного домена рецептора IRR.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 225303/14-16 п.2).

НОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ ПАРТНЕРЫ КОМПЛЕКСА ДОЗОВОЙ КОМПЕНСАЦИИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Черкасова Е.А., Бабоша В.А., Георгиев П.Г., Максименко О.Г.

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

fall2987@mail.ru

Дозовая компенсация у самцов *Drosophila melanogaster* – это механизм усиления транскрипции генов X-хромосомы в два раза с целью выравнивания между самками и самцами уровней экспрессии генов, расположенных на половых X-хромосомах. В данном процессе принимает участие рибонуклеопротеиновый комплекс дозовой компенсации (DCC, dosage compensation complex), который состоит из пяти белков (Msl1, Msl2, Msl3, ацетилтрансферазы MOF, хеликазы MLE) и длинной некодирующей РНК (roX1, roX2). Одним из нерешенных вопросов остается механизм, обеспечивающий специфичность связывания DCC только с генами X-хромосомы самцов. Предполагается, что основную роль в этом процессе играют регуляторные последовательности ДНК, на которые специфично рекрутируется DCC. Однако, каким образом эти регуляторные элементы, не имеющие между собой значимой гомологии, обеспечивают эффективное связывание DCC с X-хромосомой, до сих пор неизвестно.

Возможно, потенциальными рекрутерами DCC могут выступать белки, содержащие мотивы цинковых пальцев (ZnF) C2H2-типа, способные специфично узнавать определенные ДНК-мотивы. Нами в дрожжевой двугибридной системе был проведен поиск партнеров для ключевых белковых компонентов DCC (Msl1, Msl2) среди ZnF-белков *Drosophila melanogaster*. По результатам скрининга был выявлен ряд белков, взаимодействующих с белками Msl1 и Msl2. Далее нами были локализованы участки в составе данных белков, необходимые для установления белок-белковых взаимодействий с Msl-белками. Таким образом, на данный момент идентифицированы ДНК-связывающие транскрипционные факторы, которые потенциально способны обеспечить специфичное связывание DCC с регуляторными

элементами на X-хромосоме самцов. Дальнейшие эксперименты по изучению полногеномного распределения данных белков позволят разобраться в механизме привлечения DCC на X-хромосому самцов *Drosophila melanogaster*.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ У СЕГОЛЕТОК ИСКУССТВЕННО ВЫРАЩИВАЕМОЙ ФОРЕЛИ (*PARASALMO MYKISS WALB.*): ВЗАИМОСВЯЗЬ С ТЕМПАМИ РОСТА

Чурова М.В.¹, Мещерякова О.В.¹, Александрова А.М.², Немова Н.Н.¹

¹ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, ²ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

mchurova@yandex.ru

Исследовали уровень экспрессии генов мышечных белков у сеголеток искусственно выращиваемой форели (*Parasalmo mykiss* Walb.) с целью оценки особенностей мышечного роста в летне-осенний период и выявления показателей темпа роста рыб. Проводили наблюдение темпов роста искусственно выращиваемой форели возраста 0+ с июня по октябрь на форелевом хозяйстве (озеро Ладожское, республика Карелия). Определяли в мышцах уровень экспрессии генов тяжелой цепи миозина (*MyHC*), транскрипционных факторов регуляции миогенеза *MyoD*, *Myf5* (маркеры гиперплазии) и миогенина (маркер гипертрофии), а также миостатина (белок, ингибирующий мышечный рост).

Согласно результатам исследования изменение в уровне экспрессии гена тяжелой цепи миозина полностью соответствовало изменению относительных и абсолютных темпов роста сеголеток в летний и осенний период. Уровни экспрессии генов транскрипционных факторов регуляции *MyoD*, *Myf5* и миогенина постепенно снижались в июне-июле, а в августе снова увеличивались и сохранялись на высоком уровне в октябре. Увеличение экспрессии этих факторов в августе соответствовало степени увеличения экспрессии гена миозина по сравнению с предыдущим его значением. Что касается уровня экспрессии гена миостатина, то изменение этого показателя соответствовало изменению в уровне экспрессии транскрипционных факторов *MyoD*, *Myf5* и миогенина. Можно предположить, что при увеличении процессов мышечного роста высокая экспрессия миостатина необходима для регуляции неконтролируемого роста мышечной массы. Исходя из того, что изменение в уровне экспрессии генов *MyoD*, *Myf5* и миогенина происходило одновременно, можно заключить, что мышечный прирост у сеголеток обеспечивается процессами и гиперплазии и гипертрофии. Согласно регрессионному анализу, уровни экспрессии генов миозина и миогенина коррелируют с темпами роста сеголеток. Поэтому эти показатели можно использовать в оценке темпов роста сеголеток.

Исследования выполнены с использованием Центра коллективного пользования научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Президента РФ МК-3025.2014.4 и НШ-1410.2014.4, в рамках темы ГЗ 51.3.

БЕЛОК EAST ВЛИЯЕТ НА ФОРМИРОВАНИЕ ВНУТРИЯДЕРНЫХ ИНСУЛЯТОРНЫХ ТЕЛЕЦ И РЕГУЛИРУЕТ СВЯЗЫВАНИЕ БЕЛКА CP190 С ХРОМАТИНОМ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Шамсутдинов М.Ф.

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

shaman.ibg@gmail.com

Существует множество данных, свидетельствующих, что в организации архитектуры хроматина внутри ядра участвуют инсуляторы. Изначально инсуляторы были описаны как регуляторные элементы, нарушающие взаимодействие энхансера и промотора при локализации между ними и ограничивающие репрессивное влияние окружающего хроматина на транскрипцию. В настоящее время инсуляторы обнаружены у ряда эукариот и рассматриваются как элементы, участвующие в глобальной регуляции генной экспрессии. У *Drosophila* наиболее изучены

инсуляторы dCTCF (гомолог инсулятора позвоночных CTCF) и Su(Hw). Su(Hw)-инсулятор, включающий 12 сайтов связывания белка Su(Hw), был обнаружен в 5'- не транскрибируемой области ретротранспозона МДГ4 (*gypsy*). Известно, что в работе Su(Hw)-зависимых инсуляторов участвуют 3 белка, привлекаемые на хроматин через взаимодействие с белком Su(Hw) - Mod(mdg4)-67.2, CP190 и E(y)2/Sus1.

Ранее мы показали, что на функционирование Su(Hw)-инсулятора влияет один из компонентов ядерного матрикса - белок EAST. Целью представленной работы стало изучение механизма влияния EAST на Su(Hw)-зависимую репрессию. Мы доказали возможность прямого взаимодействия между белком EAST и белками CP190 и Mod(mdg4)-67.2. Также показано, что в S2-клетках *Drosophila* белки EAST, CP190, Mod(mdg4)-67.2 и Su(Hw) присутствуют в составе общего комплекса. В интерфазе белки Su(Hw), dCTCF, Mod(mdg4)-67.2 и CP190 колокализуются в ядрах клеток в составе отдельных скоплений, называемых инсуляторными тельцами. Взаимодействуя с белками CP190 и Mod(mdg4)-67.2, EAST влияет на их ассоциацию с инсуляторными тельцами. Суперэкспрессия белка EAST приводит к вытеснению белка CP190 из инсуляторных телец, содержащих белки Mod(mdg4)-67.2 и Su(Hw). При инактивации EAST белок CP190 остаётся внутри ядра, тогда как Mod(mdg4)-67.2 и Su(Hw) колокализуются в цитоплазме клетки. Кроме того, при суперэкспрессии EAST количество белка CP190, связывающегося с инсуляторными сайтами, значительно уменьшается. В свою очередь это приводит к ослаблению связывания с хроматином белков Mod(mdg4)-67.2 и Su(Hw). Таким образом, мы доказали, что влияние белка EAST на функционирование Su(Hw)-зависимых инсуляторов вызвано реорганизацией распределения основных инсуляторных белков в клетке и изменением состава инсуляторных комплексов на сайтах генома.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 14-04-00266-а и Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» (грант А. К. Головнина).

ДИНАМИЧЕСКИЙ ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЕТЕРОХРОМАТИНА ПРИ ЭФФЕКТЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Шацких А.С., Лавров С.А., Гвоздев В.А.

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

shackih@narod.ru

Эффект положения – эпигенетически наследуемое нарушение экспрессии гена при изменении его положения в геноме, связанное с изменением структуры хроматина под влиянием нового геномного окружения. В данной работе исследования проводились на *Drosophila melanogaster*, использовались две модельные генетические системы, демонстрирующие эффект положения: классическая *In(1)wm4* и оригинальная *In(2)A4*. В обеих системах эффект положения вызван инверсиями в разных хромосомах, приведшими к разрыву блока гетерохроматина и нарушению экспрессии близлежащих эухроматиновых генов.

С использованием ОТ-ПЦР в реальном времени были проанализированы онтогенетические профили транскрипции ряда генов из района исследуемых инверсий на разных стадиях развития. В обеих системах была обнаружена считавшаяся ранее нетипичной активация эухроматинового гена под влиянием гетерохроматина. Обе изученные системы демонстрировали изменение характера ответа генов на влияние гетерохроматина в процессе онтогенеза. Так на определенной стадии развития транскрипция только некоторых генов была нарушена, на других же стадиях онтогенеза гены, не испытывавшие ранее влияния, могли демонстрировать нарушения транскрипции, или, наоборот, имевшийся ранее эффект пропал. Интересно отметить, что изменение транскрипции гена под влиянием гетерохроматина могло быть противоположным (активация или инактивация) на разных стадиях развития. В ряде случаев было установлено, что ген наиболее чувствителен к влиянию гетерохроматина на той стадии онтогенеза, когда в норме наблюдается его активация. Полногеномный анализ транскрипции методом высокопроизводительного секвенирования РНК подтвердил данные ОТ-ПЦР в реальном времени и позволил обнаружить новые гены с противоположным характером ответа на влияние гетерохроматина.

Полученные данные указывают на сложный и динамический характер влияния гетерохроматина на транскрипцию генов при эффекте положения. По всей видимости,

компоненты гетерохроматина, такие как гетерохроматиновые белки, не обязательно вызывают долгосрочные эпигенетически наследуемые изменения структуры хроматина эухроматинового гена, но могут создавать неоптимальные условия для работы его транскрипционного аппарата. При этом, поскольку состояние транскрипционного аппарата гена динамически меняется в ходе онтогенеза, чувствительность к влиянию гетерохроматина также может изменяться. Аналогичные результаты, полученные на разных модельных системах, свидетельствуют в пользу универсального характера предполагаемых закономерностей.

Работа была поддержана грантом РФФИ №14-04-32308 мол_а.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ NOTCH1 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ (ХЛЛ)

Шевчук А.С., Румянцев А.М., Стругов В.В., Стадник Е.А., Зарицкий А.Ю.

Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр,
Санкт-Петербург, Россия

spbshevchuk@gmail.com

Хронический лимфоцитарный лейкоз - это болезнь, связанная с накоплением большого числа лимфоцитов в крови, селезенке, печени и лимфоузлах. Благодаря развитию современных технологии секвенирования были выявлены новые генетические маркеры, ассоциированные с ХЛЛ. Одним из таких маркеров является ген NOTCH1, который кодирует трансмембранный белок, функционирующий как рецептор и регулятор транскрипции. Подавляющее большинство мутаций в гене NOTCH1 наблюдается в участке, кодирующем внутриклеточный PEST домен. Около 80% данных мутаций представлено делецией двух нуклеотидов 7544-7545delCT.

На первом этапе работы был проведен поиск мутаций в гене NOTCH1 у пациентов с ХЛЛ. Для выявления делеции с.7544-7545delCT в PEST домене гена NOTCH1 использовали метод аллель-специфичной ПЦР. В качестве контроля использовали праймеры, специфичные к последовательности дикого типа. Детекцию флуоресценции осуществляли с помощью флуоресцентно меченых зондов.

При проведении секвенирования в ходе трёх отдельных ПЦР реакций амплифицировались частично перекрывающиеся фрагменты, охватывающие весь PEST домен гена NOTCH1. ПЦР-фрагменты очищали с помощью электрофореза в агарозном геле, после чего проводили секвенирование обеих цепей полученных фрагментов. Анализ полученных хроматограмм и нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы UGENE, а также алгоритмов Clustal Omega и Blast.

Были исследованы образцы от 76 пациентов. Делеция с.7544-7545delCT была выявлена у 11 (13%) пациентов. Применение секвенирования позволило выявить у одного из пациентов наличие редкой мутации с.7298delT.

На втором этапе работы фрагмент гена NOTCH1, кодирующий внутриклеточный домен (NICD) был амплифицирован и встроен в плазмиду pTZ57R/T. С помощью методов сайт-направленного мутагенеза в состав данной последовательности были внесены замены, соответствующие выявленным мутациям, в частности делеция с.7544-7545delCT. Полученные плазмиды будут использованы для создания клеточных линий, характеризующихся сверхэкспрессией последовательностей, кодирующих мутированные варианты NICD домена. С помощью этих моделей будет исследовано влияние наличия мутаций в гене NOTCH1 на экспрессию Notch-регулируемых генов.

РОЛЬ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

**Щаюк А.Н.¹, Шепетько М.Н.², Михаленко Е.П.¹, Чеботарева Н.В.¹,
Писарчик С.Н.³, Прохоров А.В.², Крупнова Э.В.¹**

¹ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», ²УО «Белорусский
государственный медицинский университет», ³УЗ «Городское клиническое
патологоанатомическое бюро», Минск, Беларусь

anna.shchayuk@tut.by

Ангиогенез является важным процессом в патогенезе любых злокачественных новообразований, в том числе и немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Центральную роль в ангиогенезе играют сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и эпидермальный фактор роста (EGF).

Целью данного исследования является оценка возможных ассоциаций функциональных полиморфизмов в позициях -2578C>A, -634G>C, +936C>T гена *VEGF* и +61A>G гена *EGF* с прогрессированием НМРЛ у пациентов, проживающих на территории Республики Беларусь. Данные полиморфизмы располагаются в ключевых регуляторных элементах генов, что влияет на эффективность трансляции белка, экспрессию и активность изучаемых факторов роста.

В исследование было включено 186 пациентов с диагнозом НМРЛ.

Сравнительный анализ распределения генотипов трех полиморфизмов гена *VEGF* не выявил достоверных ассоциаций между изучаемыми полиморфными вариантами и регионарным и/или отдаленным метастазированием. Не обнаружено ассоциаций между полиморфизмом в положении -634G>C и выживаемостью пациентов с НМРЛ. У носителей генотипа -2578CC большая степень распространения опухоли (T2-T4) встречалась достоверно чаще ($\chi^2=11,39$, $p=0,0007$), чем меньшая степень распространенности первичного очага (T1), а у носителей генотипа -2578CA чаще ($\chi^2=7,00$, $p=0,008$) встречается малый неинвазивный рак (T1). Для -2578C>A и +936C>T полиморфизмов гена *VEGF* выявлена значимая взаимосвязь в исследуемой популяции с исходом заболевания: носители гетерозиготных генотипов -2578CA ($\chi^2=5,77$, $p=0,016$) и +936CT ($\chi^2=5,77$, $p=0,016$) достоверно чаще входили в группу наблюдения.

Проведенный анализ взаимосвязи полиморфизма гена *EGF* с гистологическим типом опухоли показал, что у мужчин с плоскоклеточным раком легкого генотип +61GA встречается достоверно чаще ($\chi^2=4,11$, $p=0,04$), чем у мужчин с аденокарциномой. У женщин, наоборот, наблюдается тенденция к увеличению частоты встречаемости данного генотипа у пациентов с аденокарциномой, но достоверных различий выявлено не было.

Так как EGF через свой рецептор EGFR запускает ключевые тирозинкиназные каскады, которые активируют транскрипцию генов, контролирующих процессы опухолевого ангиогенеза, то были проанализированы комбинации полиморфных генотипов гена *VEGF* и *EGF*. Выявлено, что комбинация генотипов -2578CC/+61AG встречается достоверно чаще ($\chi^2=8,13$, $p=0,004$) в исследуемой группе пациентов с большей степенью распространения опухоли (T2-T4).

ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ ПОЛИМОРФНОГО АЛЛЕЛЯ GLY482SER ГЕНА PGC- 1A1PNA У ЛИЦ, ИМЕЮЩИХ ДИАГНОЗ «ИНСУЛИННЕЗАВИСИМЫЙ ДИАБЕТ»

Юрьева Б.В., Нурбеков М.К.

ФГБОУ ВПО Московский государственный гуманитарный университет им.
М.А. Шолохова, Москва, Россия

me@bekka.ru

По данным ВОЗ оценка распространенности сахарного диабета составляет порядка 5-6% как в России, так и в мире, что является значительной цифрой. Генетическая предрасположенность к инсулиннезависимому диабету известна достаточно давно, однако молекулярный механизм возникновения инсулинорезистентности и самого заболевания не

установлен. Исследование ассоциации инсулиннезависимого диабета с конкретными полиморфизмами может стать одним из ключей к пониманию этого механизма.

Коактиватор *PGC-1alpha* причастен к выпуску инсулина бета-клетками и инсулинорезистентности, поэтому мутации в *PGC-1alpha* могут быть ассоциированы с возникновением инсулиннезависимого диабета. Исследования ассоциации полиморфизма Gly482Ser гена *PGC-1alpha* с диабетом второго типа показали разные результаты для разных, а иногда и для одинаковых этнических групп. Исследования связи данного полиморфизма с диабетом у жителей России не проводились.

Целью нашего исследования стало определение частоты полиморфного аллеля Gly482Ser у пациентов с диагнозом “инсулиннезависимый диабет”, а также сопоставление данных генотипирования с анализами крови. Генотип определяли методом ПЦР по конечной точке по ДНК, выделенной из крови пациентов.

У пациентов с диабетом второго типа частота аллеля 482Ser гена *PGC-1alpha* составила 21%, аллеля 482Gly - 79%. Данный предварительный анализ частот аллелей, по-видимому, свидетельствует скорее об отсутствии связи полиморфизма Gly482Ser с диабетом второго типа, чем о ее наличии.

Полученные данные дают возможность дальнейшей работы в области поиска данной ассоциации (либо ее отсутствия), в частности для сравнения частоты полиморфного аллеля 482Ser с частотой данного аллеля у лиц, не имеющих сахарного диабета второго типа.

СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ»

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ НА СВОЙСТВА ЧЕРНОЗЕМНЫХ И СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ ПРАВОБЕРЕЖНОЙ ЛЕСОСТЕПИ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Аваков М.С.

ФГБОУ ВПО Ульяновское высшее авиационное училище гражданской авиации
(институт), Ульяновск, Россия

mih.avakov@mail.ru

В настоящее время исследования по влиянию загрязнений окружающей среды нефтепродуктами в условиях лесостепного Среднего Поволжья крайне ограничены, а проблема исследования экологического состояния биогеоценозов, разработка оценочных критериев степени деградации почв и методов их реабилитации является актуальной.

Работа по изучению влияния нефтепродуктов на биодеградацию почв проводилась на территориях пролегания нефтепровода «Дружба» и автомагистрали М-5 «Москва-Челябинск» в Среднем Поволжье.

Почвенные образцы были отобраны на глубинах 0 – 5 м по ГОСТ 28168-89. Все анализы, учеты, наблюдения проводили общепринятыми методами согласно ГОСТ 26213-91, ГОСТ 26483-85, ГОСТ 27821-88, ГОСТ 26212-91, ГОСТ 26204-91, общую численность микроорганизмов оценивали по Звягинцеву Д.Г. (1980), интенсивность нитрификации, интенсивность выделения CO₂, целлюлозоразлагающую способность – по Штатнову В.И. (1983), степень нефтяного загрязнения (фон – 40 мг/кг почвы) – согласно РД 52.18.575-96, достоверность результатов – по Доспехову Б.А. (1985).

Сравнительный анализ воздействия различных доз нефтезагрязнения на зональные типы почв Среднего Поволжья выявил количественные изменения в составе почвенных бактерий и грибов, а также изменения всего комплекса физико-химических свойств почв. Изменения специфичны и зависят от типа почв, дозы, и удаленности.

Загрязнение нефтью провоцировало развитие бактерий на серой лесной почве при внесении в концентрациях до 10 л/м², на черноземе – развитие грибов и бактерий – до 5 л/м², что, скорее всего, связано с возможностью разложения нефти их почвенным микробным комплексом.

Анализ данных дыхания почв показал, что максимальный достоверный показатель эмиссии CO₂ для серой лесной почвы, и для чернозема – 5 л/м². После внесения высоких доз нефти эмиссия CO₂ достоверно снижалась в обоих видах почв.

Было замечено снижение нитрифицирующей способности по сравнению с незагрязненной почвой на 26-130 %, вызванное нефтяным загрязнением и, соответственно, ухудшение азотного режима почвы.

Черноземные почвы оказались более устойчивыми к загрязнению нефтепродуктами. Это связано с тем, что они отличаются большей скоростью разложения нефти, высокой биологической активностью и хорошими окислительными условиями.

Использованные в работе показатели эколого-биологического состояния почв могут использоваться для оценки воздействия нефтезагрязнения окружающей среды, при биодиагностике и биомониторинге состояния почв.

АКТИВНОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО ПОГРЕБЕННЫХ И СОВРЕМЕННЫХ КАШТАНОВЫХ ПОЧВ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Алексеев А.М.

ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт;
ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино, Россия

ternaleator@mail.ru

Органическое вещество (ОВ) является важной составляющей частью почвы и источником информации для экологических, палеоклиматических, палеоландшафтных и почвенно-археологических исследований. ОВ почвы подразделяется на активный, медленный и пассивный пулы. В биологическом круговороте преимущественно участвуют соединения углерода активного пула ОВ почвы с периодом полуразложения от нескольких суток до двух-трех лет.

Целью работы было определение структуры активного пула ОВ каштановых палеопочв, погребенных под оборонительным валом Анны Иоанновны (сооружен в 1718–1720 гг.) и современной каштановой почвы (Волгоградская обл., Иловлинский р-н). Исследования проводили с помощью биокинетического метода при длительной инкубации почв (150 сут, влажность 24 вес. %, температура 22°C) и регулярном учете выделяющегося диоксида углерода. Кумулятивные количества продуцируемого за период инкубации С-СО₂ аппроксимировали уравнениями экспоненциальной регрессии и вычисляли содержание углерода микробной биомассы (С_{мб}), потенциально-минерализуемого углерода (С_{пм}), углерода легко- (С₁), умеренно- (С₂) и трудноминерализуемой (С₃) фракций активного пула ОВ почвы.

Содержание С_{мб} в современной почве составляло 27.3 мг С/100 г и было в среднем в 1.8 раза выше, чем в погребенных почвах. Константа скорости минерализации (*k*) С_{мб} современной почвы равнялась 1.141 сут⁻¹, а погребенных – 0.790 и 0.949 сут⁻¹. Содержание С_{пм} в исследуемых почвах различалось несущественно: в современной составляло 99 мг С/100 г, а в погребенных – 93 и 114 мг С/100 г. В составе активного пула ОВ исследуемых почв выделены фракция С₁ с *k* = 0.338 сут⁻¹ (современная почва) и *k* = 0.321 и 0.603 сут⁻¹ (погребенные почвы) и фракция С₃ с *k* = 0.012, 0.014 и 0.014 сут⁻¹ (современная и погребенные почвы соответственно), а умеренноминерализуемая фракция углерода не была обнаружена. Таким образом, судя по константам скорости минерализации углерода трудноминерализуемой фракции, ОВ современной каштановой почвы более устойчиво к разложению микроорганизмами, чем ОВ погребенных почв.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта НШ-6123.2014.4 и Программы Президиума РАН № 4.

ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССА ПРОБОПОДГОТОВКИ НА ПОДВИЖНОСТЬ СВИНЦА В ПОЧВЕ

Бауэр Т.В., Минкина Т.М., Козлова В.Р.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

bauertatyana@mail.ru

Определение соединений тяжелых металлов в почвах проводится на основе параллельных и последовательных экстракций, которые включают различную пробоподготовку. В первом случае диаметр почвенных частиц должен быть менее 1 мм, а во втором – менее 0.25 мм. Целью настоящей работы является изучение влияния процесса пробоподготовки на подвижность Рb в черноземе обыкновенном.

Объектом исследования являлись образцы чернозема обыкновенного тяжелосуглинистого на лессовидных суглинках, которые были искусственно загрязнены ацетатом свинца в дозах 300 мг/кг и 2000 мг/кг.

Для определения подвижных форм Рb использовали: 1 н. ацетатно-аммонийный буфер (ААБ) с рН 4.8, извлекающий обменные формы металла; 1% ЭДТА в ААБ с рН 4.8, извлекающий обменные и комплексные формы и 1н НСl, извлекающий кислоторастворимые

формы. По разнице между содержанием Pb в вытяжке смешанного реагента и ААБ определялось количество комплексных соединений. Количество специфически сорбированных соединений находили по разнице между содержанием металла в вытяжке HCl и ААБ. Содержание Pb в вытяжках определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС). Прободготовка осуществлялась 2 способами. В первом случае почву пропускали через сито с диаметром ячеек 1 мм (общая прободготовка), во втором - через сито с диаметром ячеек 0,25 мм (специальная прободготовка). Навеска почвы и в том, и в другом случае составляла 5 г.

Распределение Pb по формам соединений не зависит от процесса прободготовки и имеет сходную закономерность как в незагрязненной, так и загрязненной почве: общая прободготовка (незагрязненная почва; загрязненная ацетатом Pb в дозе 300 и 2000 мг/кг): специфически сорбированные (16,1±1,4; 198,9±18,3 и 215,5±17,4) > комплексные (5,9±0,4; 89,5±9,7 и 100,4±8,9) > обменные (1,2±0,1; 18,6±2,1 и 22,3±1,9). Специальная прободготовка: специфически сорбированные (18,0±2,3; 201,7±19,6 и 863,8±35,7) > комплексные (7,3±0,9; 90,4±10,2 и 360,2±20,6) > обменные (2,6±0,3; 20,6±1,8 и 149,9±12,1). Значительное влияние на подвижность Pb оказывает состояние анализируемого образца. По мере увеличения дисперсности почвенных частиц происходит возрастание содержания металла во всех трех подвижных формах. В незагрязненной почве, пропущенной через сито с диаметром ячеек 0,25 мм, экстрагируемость Pb выше в 1,1-2,2 раза; в загрязненной – в 1,1-6,7 раза соответственно.

Следовательно, на подвижность Pb в почве оказывает влияние процесс прободготовки.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-05-00586 А.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПАУ В ПОЧВАХ ТЕХНОГЕННОЙ ТЕРРИТОРИИ НОВОЧЕРКАССКОЙ ГРЭС МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Болотова О.В., Сушкова С.Н., Минкина Т.М.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

Изучение содержания полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в почвах, подверженных техногенному загрязнению со стороны предприятий энергетической отрасли, является актуальной задачей за счет их канцерогенности и мутагенности. Одним из основных методов определения ПАУ в почвах является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Цель работы: подобрать оптимальные условия измерения ПАУ в почвенных образцах.

Для выполнения поставленной цели подбирались образцы почв с высоким содержанием ПАУ. В качестве объектов исследования изучались почвы территорий, прилегающие к филиалу ОАО «ОГК-2» Новочеркасской ГРЭС (НчГРЭС). НчГРЭС (предприятие I класса опасности) – одна из крупнейших тепловых электростанций России. Содержание бенз(а)пирена в почвах данной территории варьирует от 15 до 350 нг/г (Сушкова и др., 2014).

Извлечение ПАУ из почв исследуемых объектов проводилось методом омыления (Ярошук и др., 2003). Для извлечения ПАУ из почвы использовали 2%-ный раствор КОН в 96% этиловом спирте для кипячения пробы в течение 3 часов для достижения полноты щелочного гидролиза. Эффективность извлечения ПАУ из исследуемого объекта оценивали методом ВЭЖХ по массовому содержанию в образце на жидкостном хроматографе («Люмахром» со спектрофлуориметрическим детектором, компания Люмэкс, Санкт-Петербург, 2008) с учётом требований, установленных международным стандартом ИСО 13877 (ИСО 13877, 2005). Анализ осуществляют в условиях изократического элюирования подвижной фазой, состоящей из ацетонитрила и воды в соотношении 4:1, при скорости потока 200 мкл/мин, температуре колонки 28°C, детектирование осуществлялось при длинах волн испускания и поглощения, заданных для каждого ПАУ индивидуально.

Путем измерения спектров ацетонитрильных растворов каждого индивидуального ПАУ были получены значения длин волн испускания и длин волн поглощения, при которых пик определяемого компонента имеет наибольшую интенсивность на хроматограмме, что значительно увеличивает чувствительность прибора и позволяет определять присутствующие вещества в самых минимальных количествах для всего ряда определяемых ПАУ. Определены наиболее оптимальные условия для хроматографирования 16 приоритетных ПАУ: длина волны

возбуждения флуориметрического детектора – 220-293 нм и длина волны испускания – 330-414, нм.

С использованием данных условий измерения установлено накопление ПАУ в исследуемых почвах зависит от удаленности и расположения мониторинговых площадок по отношению к НчГРЭС. Установлено превышение ПДК ПАУ в почвах пяти из десяти мониторинговых площадок. Максимальное содержание ПАУ (350 нг/г) наблюдается в 20-см слое почвы мониторинговых площадок, расположенных наиболее близко к источнику загрязнения по линии преобладающего направления розы ветров (площадки, расположенные на расстоянии 1,6 – 15 км). Более благополучное экологическое состояние почв наблюдается в 20 км от источника эмиссии, где содержание ПАУ ниже ПДК.

Таким образом, для определения ПАУ в почвах подобраны оптимальные условия определения методом ВЭЖХ. Результаты показали, что в почвах, находящихся вблизи от НчГРЭС, происходит накопление ПАУ.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации №14.У30.14.6448-МК, РФФИ № 14-05-00586 А.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ПОЧВ

Железова А.Д.^{1,2}, Кутова О.В.², Тхакахова А.К.²

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

²Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва, Россия

alferrum@mail.ru

В настоящее время увеличивается интерес к адаптации и применению современных методов молекулярной биологии для анализа микробного сообщества почв. Методы, основанные на работе с экстрагированной из образцов ДНК, обладают рядом преимуществ над классическими методами почвенной микробиологии: возможность учёта некультивируемых форм микроорганизмов, высокая точность, воспроизводимость и информативность. Принцип метода ПЦР в реальном времени (количественной ПЦР) – проведение полимеразной цепной реакции с параллельной детекцией флуоресценции, значение которой зависит от концентрации двухцепочечной ДНК в ячейке. По номеру цикла, на котором происходит превышение порогового значения флуоресценции в ячейке, с помощью программного обеспечения определяется начальная концентрация целевых фрагментов ДНК в экстракте. Необходимо одновременное проведение реакции с серией стандартных растворов известной концентрации для построения калибровочного графика.

Применение данного метода позволяет оценить численность отдельных филогенетических групп (от царств и доменов до отдельных семейств) почвенных микроорганизмов. Кроме того, возможна оценка функциональных характеристик микробного сообщества: анализ функциональных генов, кодирующих ферменты азотного цикла, гидролитические ферменты.

С помощью метода количественной ПЦР нами было проанализировано распределение ДНК бактерий, архей и микромицетов по профилю темно-серой почвы Богословского стационара Почвенного института. Верхняя часть гумусово-аккумулятивного горизонта АU (0-15 см) является наиболее биогенной, количество ДНК бактерий и архей составляло $9,6 \cdot 10^8$ копий/г почвы и $9 \cdot 10^7$ копий/г почвы соответственно. Высокая биологическая активность и количество ДНК прокариотной группы микроорганизмов верхних горизонтов связана с почвенно-биологическими и биохимическими процессами трансформации органических веществ, поступающих в почву. ДНК микромицетов распределяется по профилю равномерно – от $5 \cdot 10^7$ до $9,4 \cdot 10^7$ копий/г почвы.

ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ НА СВОЙСТВА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ УГЛЕВОДОРОДАМИ НЕФТИ, В ХОДЕ ЕЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ

Зиннатшина Л.В.

ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт,
ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино, Россия

Lohmataya_ova@mail.ru

В последнее время для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов часто используют различные сорбенты и мелиоранты. Однако выбор сорбента часто основан на эмпирическом опыте использования наиболее дешевых минералов и органических отходов, имеющихся в данном регионе. Целью данной работы является разработка теоретических основ для правильного выбора дозы и формы натуральных сорбентов для ускорения процесса биоремедиации почв, загрязненных углеводородами нефти. На данном этапе была поставлена задача изучить влияние ряда натуральных сорбентов (минеральных, органических и углеродистых) на свойства серой лесной почвы, а также на скорость биоремедиации почвы, загрязненной отработанным моторным маслом и дизельным топливом в суммарной дозе 7%.

Установлено, что все изученные сорбенты (минеральные: карбоксил, целит, каолинит, вермикулит, диатомит; органические: торф и древесные опилки и углеродистые: активированный уголь и биочар) положительно влияют на скорость биоремедиации почвы при оптимальной дозе сорбентов в пределах 0,2-1%. Это выражается как в ускоренном снижении остаточной концентрации углеводородов через 16 месяцев обработки, так и в более быстром снижении фитотоксичности почв. Механизм действия сорбентов может быть обусловлен их положительным влиянием на влагоемкость и гидрофильность нефтезагрязненных почв, а также снижением токсичности сильно загрязненных почв в результате обратимой сорбции токсичных компонентов углеводородов и их метаболитов. Все эти факторы создают более благоприятные условия для деятельности нефтедеструкторов. При повышенных дозах сорбентов эффект от их внесения снижается или даже становится отрицательным, что можно объяснить сдвигом pH почвы в неблагоприятную сторону, а также избыточной сорбцией питательных элементов и самих углеводородов, что замедляет скорость их деградации.

Автор выражает благодарность научному руководителю в.н.с., к.б.н. Г.К. Васильевой.

ПОЧВЕННЫЕ ЭКОСИСТЕМЫ СЕВЕРНЫХ ЛУГОВ И АГРОЦЕНОЗОВ: ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НА ОСНОВЕ СООБЩЕСТВ ПОЧВЕННЫХ НЕМАТОД

Калинкина Д.С., Матвеева Е.М, Сушук А.А.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

Естественные луга Карелии занимают около 1% территории республики и по происхождению являются вторичными. Большая часть лугов используется для сенокоса и выпаса скота, меньшая – распахивается под выращивание пропашных культур. Цель работы – изучить влияние интенсивности сельскохозяйственной нагрузки на особенности сообществ почвенных нематод естественных лугов (n=56), сенокосных лугов и пастбищ (n=17), агроценозов с монокультурами (n=31).

Сообщества почвенных нематод естественных и сенокосных лугов имели сходные черты и характеризовались средними для региона значениями численности (1900-2200 экз./100 г почвы). Индексы, рассчитанные для почвенных трофических сетей лугов на основе нематологических данных – индекс структурирования *SI* (61,4-71,3) и обогащения *EI* (40,0-47,5) – свидетельствовали о стабильной и многокомпонентной почвенной экосистеме. Значения индекса путей разложения органического вещества (*CI*=24,3-28,0) показали, что деструкция идет с преимущественным участием бактерий. Обнаружены различия в структуре сообществ почвенных нематод исследованных биоценозов: при общем доминировании нематод-бактериотрофов в лугах преобладают микотрофы, в почве сенокосных лугов - паразиты растений.

Использование земель для выращивания монокультур привело к снижению большинства показателей: численность нематод составила 1300 экз./100 г почвы, $CI=17,7$; $SI=45,9$. Индекс EI , напротив, возрос (57,0), что связано с обогащением почвы органикой. Такое соотношение индексов указывает на упрощенную трофическую сеть и нарушенную почвенную экосистему. Фитопаразиты занимают позицию субдоминантов в сообществе.

Дискриминантный анализ массива полученных данных на основе эколого-популяционных индексов позволил установить, что достоверное разделение исследованных биотопов возможно только между агроценозами и естественными лугами за счет индекса SI . Сенокосные угодья не проявляют выраженных особенностей, имея сходство как с некоторыми агроценозами, так и лугами. Анализ почвенных параметров ненарушенных лугов и агроценозов (на примере картофельных полей) показал, что при увеличении интенсивности сельскохозяйственной нагрузки снижается содержание общего углерода (от 34,7 до 4,1%) и азота (от 2,2 до 0,29%), повышается значение pH почвенного раствора (от 4,2-4,9 в лугах до 5,1-6,2 в агроценозах).

Таким образом, эколого-популяционные индексы, характеризующие трофические сети почв, могут быть использованы для мониторинга состояния и динамики луговых экосистем и агроценозов. Исследования были частично поддержаны Программой фундаментальных исследований ОБН РАН (2015-2017 гг.).

ВЛИЯНИЕ ФОРМЫ АЗОТА И C/N НА МИНЕРАЛИЗАЦИЮ И ТРАНСФОРМАЦИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ КУКУРУЗЫ

Квиткина А.К.

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино, Россия

aqvia@mail.ru

Минерализация растительного опада – ключевой процесс круговорота углерода. Скорость минерализации зависит не только от химических, физических и биологических факторов окружающей среды, но и от качества опада, в том числе концентрации азота и соотношения C/N. В лабораторных инкубационных опытах изучалось влияние эндогенного и экзогенного азота на минерализацию опада кукурузы, выращенной в песчаной культуре в условиях обедненного (от 0 до 8,4 мг N/кг песка), нормального (84 мг N/кг песка) и обогащенного (от 168 до 672 мг N/кг песка) азотом питания. В итоге отношение C/N в листьях составило 62, 47, 34, 22 в зависимости от уровня азотного питания. Эндогенный азот в составе растений находился преимущественно в органической форме, только при C/N 22 азот одинаково был представлен как минеральной (нитратной), так органической формой.

В первом эксперименте исследовали влияние эндогенного азота, используя листья кукурузы с различным отношением C/N: 22, 34, 47 и 62. Для изучения влияния экзогенного азота вносили NH_4NO_3 (эксперимент 2) или KNO_3 (эксперимент 3), чтобы довести исходное соотношение C/N 62 в растительных остатках кукурузы до 47, 32, 22 и 10. Под экзогенным азотом мы понимаем азот, поступающий в почву в виде удобрений или с атмосферными выпадениями преимущественно в аммиачной и нитратной формах.

Скорости минерализации лабильных и устойчивых пулов углерода в растительных остатках оценивали при помощи уравнения двойной экспоненты, описывающей кинетику кумулятивных потерь CO_2 в течение годовой инкубации при 22°C.

Было показано, что содержание органической формы азота не влияет на размер лабильного пула углерода, но влияет на константу его разложения (k_1). Увеличение содержания эндогенного минерального азота при C/N 22 повлияло на размер лабильного пула (A_1). KNO_3 в качестве экзогенного источника азота влиял как на размер лабильного пула (A_1), так и на константу его разложения (k_1). Внесение NH_4NO_3 оказало наибольшее влияние на разложение, так как воздействовало на все параметры модели, описывающей деструкцию растительных остатков, включая и константу разложения устойчивого пула (k_2). Таким образом, скорость разложения и минерализации растительного опада зависит не только от концентрации, но и от формы доступного азота.

Степень трансформации органического вещества оценивали по распределению углерода по функциональным группам с помощью твердофазной ^{13}C -ЯМР спектроскопии. При разложении

растительных остатков кукурузы в несколько раз увеличивалось содержание алифатического и ароматического углерода, возрастало содержание карбоксильного углерода, что происходило за счет снижения о-алкилов. Внесение минерального азота увеличивало содержание алкилов и арилов, причем аммонийный азот оказывал более сильное воздействие на трансформацию органического вещества, чем нитратный. Индексы гумификации (отношение алкилов и арилов к о-алкилам) в опыте с внесением аммонийной формы азота были выше, чем без внесения или при внесении только нитратной формы азота. В исходной биомассе с C/N 62 Alk/o-Alk составлял 0,11, Aryl/o-Alk 0,07. По окончании опыта без внесения азота Alk/o-Alk увеличился до 0,33, а Aryl/o-Alk 0,2. При внесении нитрата аммония индекс гумификации Alk/o-Alk достиг 0,51, а Aryl/o-Alk 0,23. Таким образом, внесение аммонийной формы азота оказывает наибольшее воздействие как на скорости минерализации, так и на степень трансформации растительных остатков.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-01738

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОТЫ ПОСТАГРОГЕННОЙ ПОЧВЫ НА КРАЙНЕМ СЕВЕРЕ

Ковалева В.А., Холопов Ю.В

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

kovaleva@ib.komisc.ru

Исследования проводили на сенокосном лугу, созданном после освоения мохово-лишайниково-ерниковой тундры в Воркутинском районе Республики Коми в 1958 г. и заброшенном через 40 лет использования.

В последние годы состав травянистого сообщества сохраняется без существенных изменений. Доминантами в фитоценозе являются высеянные виды трав: лисохвост луговой и мятлик луговой. Так как кореной смены растительности пока не происходит, почва сохраняет морфологическое строение, сформировавшееся при функционировании луга как агроэкосистемы (почва луговая дерновая поверхностно-глеевая).

Изучение структуры микробиоценозов на основе оценки численности и соотношения эколого-трофических групп микроорганизмов показало, что в 2010 г. в дерновом горизонте почвы луга преобладали бактерии, усваивающие органические формы азота (аммонификаторы), и микроорганизмы, использующие минеральные формы азота (соответственно 1663 ± 775 и 1622 ± 592 млн КОЕ/г а.с.п.) Несколько меньшей численностью отличались группы олиготрофов и олигонитрофилов: 1135 ± 340 и 872 ± 26 млн КОЕ /г а.с.п. соответственно. Численность микромицетов составляла 0.45 ± 0.01 млн КОЕ /г а.с.п. В 2011 г. так же была отмечена достаточно высокая численность всех физиологических групп микроорганизмов. Численность аммонификаторов варьировала в пределах 1526 ± 562 , минерализаторов азота – 2045 ± 382 , олиготрофов – 1878 ± 57 , олигонитрофилов – 1442 ± 43 , микромицетов – 0.67 ± 0.02 млн КОЕ /г а.с.п. В 2014 г., в связи с затяжной весной и более холодными погодными условиями летнего периода численность эколого-трофических групп микроорганизмов была существенно ниже, чем в предыдущие годы: аммонификаторов – в 2.0-2.2, минерализаторов азота – в 14.9-18.8, олиготрофов – в 18.1-24.9, микромицетов – в 1.1-1.7 раза. В этих условиях относительно высокой численностью (2720 ± 634 млн КОЕ /г а.с.п.) характеризовалась только группа олиготрофов. Численность физиологических групп которого отражает характер биологического круговорота и определяется конкретными погодными условиями года.

ВЛИЯНИЕ БИОУГЛЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ И АГРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Кольцова Т.Г., Сунгатуллина Л.М., Андреева А.А.

Институт проблем экологии и недропользования АН РТ, Казань, Россия

t@shmain.ru

Биоуголь является перспективным мелиорантом природного происхождения с основным предназначением – секвестрировать углерод в почве.

Цель исследования заключалась в изучении влияния березового биоугля на фитопродуктивность пшеницы и гороха, а также агрохимические (содержание органического вещества, подвижного фосфора, обменного калия, общего азота, емкость катионного обмена, степень кислотности) и биологические (количество аммонифицирующих бактерий; микроорганизмов, усваивающих минеральные формы азота, микромицетов, спорообразующих микроорганизмов, свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов) свойства дерново-подзолистой супесчаной почвы в условиях лабораторного вегетационного опыта. Испытанию подлежали следующие концентрации биоугля в почве: 1%, 2%, 5%.

В результате установили, что наибольший прирост (20%) биомассы пшеницы сорта «Экада» на 42 сутки наблюдался при концентрации биоугля в 2%. Максимальный прирост биомассы гороха сорта «Варис» на 42 сутки составил 30% от контроля при 5% содержании биоугля в почве.

С повышением концентрации биоугля в почве в опыте с пшеницей достоверно значимо увеличивается содержание органического вещества (коэффициент корреляции Пирсона $r=0,97$, $p=0,034$), обменного калия ($r=0,99$, $p=0,007$), происходит смещение степени кислотности в нейтральную среду ($r=0,97$, $p=0,029$). Полученные данные согласуются с литературными сведениями и обусловлены, прежде всего, наличием в биоугле зольной фракции, а также высвобождением зольных элементов из нерастворимой части биоугля по мере роста растений, который сопровождается увеличением количества корневых выделений, активизацией микробиологических процессов в почве.

В опыте с горохом с возрастанием содержания биоугля в почве достоверно значимо увеличивается количество микромицетов ($r=0,99$, $p=0,012$), микроорганизмов, потребляющих минеральные формы азота ($r=0,99$, $p=0,012$), а также органическое вещество ($r=0,99$, $p=0,009$) в почве. Выявленные закономерности, предположительно, связаны с биологическими особенностями опытных растений. Активное развитие почвенной микрофлоры, участвующей в процессах минерализации органического вещества, происходит благодаря тому, что биоуголь, стимулируя рост растений гороха, способствует увеличению объема легкогидролизуемых корневых выделений и корневого опада.

Таким образом, нами отмечено положительное влияние березового биоугля на фитопродуктивность, агрохимические и биологические свойства дерново-подзолистой супесчаной почвы.

ВЛИЯНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* НА МИКОРИЗАЦИЮ КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ИМИТАЦИИ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ

Курамшина З.М.¹, Хайруллин Р.М.²

¹Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак; ²ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

kuramshina_zilya@mail.ru

Глобальные изменения климата, приобретающие все более выраженный характер под влиянием усиливающихся антропогенных воздействий, становятся в настоящее время фактором, ограничивающим продуктивность ведущих сельскохозяйственных культур. Одним из наиболее неблагоприятных для растения факторов является засуха, которая влияет на все физиолого-биохимические процессы. Важную практическую ценность представляет применения препаратов на основе эндофитных бактерии для повышения устойчивости растений к почвенной засухе, т.к. доказано, что некоторые бактерии, стимулирующие рост

растений, способны облегчить последствия засухи для растений с помощью различных механизмов.

Целью работы явилось изучение влияния инокуляции семян кукурузы (*Zea mays* L) эндофитными антагонистическими штаммами бактерий *B. subtilis* на микоризацию корней растений в условиях имитации почвенной засухи. Семена обрабатывали суспензией спор (10^6 клеток/мл) эндофитных штаммов бактерий *B. subtilis* 26Д, *B. subtilis* 11ВМ из расчета 20 л суспензии на 1 т семян. Растения выращивали на почве (выщелоченный чернозем). Почвенную засуху имитировали следующим способом. После посева семян почву во всех сосудах поливали дистиллированной водой до влажности 70% от полной полевой влагоемкости, которую определяли расчетным методом. Опытные растения (имитация засухи) выращивались в сосудах, в которых влажность почвы поддерживалась на расчетном уровне 30%. Полив проводили через каждые три дня (или по мере начала визуального завядания листьев). Для полива растений использовалась дистиллированная вода. Растения выращивали на светоплощадке с фотопериодом 16 ч, при температуре воздуха 22-25⁰С. Корни затем отделяли, и проводили количественный учет ВАМ по методу Травло. В проведенных исследованиях были получены следующие результаты. Частота микоризации корней контрольных растений, выросших при влажности почвы 70%, из семян, не обработанных эндофитными штаммами бактерий, была около 60%. Обработка семян спорами обоих штаммов эндофитных бактерий снижала частоту микоризации корней растений на 20%. Имитация засухи уменьшала показатель частоты микоризации в корнях кукурузы в 1,2 раза в сравнении с контрольными растениями, не обработанными бактериями. В корнях растений, инокулированных эндофитными бактериями и растущими в условиях недостатка влаги, частота встречаемости микоризы повышалась в сравнении с растениями, растущими при влажности почвы 70% и также обработанных спорами бацилл.

МЕТОДИКА СОЗДАНИЯ СРЕДНЕМАСШТАБНОЙ ПОЧВЕННОЙ КАРТЫ ВЫБОРГСКОГО РАЙОНА КАРЕЛЬСКОГО ПЕРЕШЕЙКА

Лазарева М.А.

Центральный музей почв им. В.В. Докучаева, Санкт-Петербург, Россия

margoflams@mail.ru

Традиционные подходы составления среднемасштабных почвенных карт, которые базируются на методах последовательной генерализации имеющихся крупномасштабных почвенных карт и укладке результата генерализации на топографическую основу соответствующего масштаба – трудоемки. При отсутствии крупномасштабных почвенных карт, составляемые среднемасштабные почвенные карты по факторам почвообразования являются схематичными, и порой не отражают реального состояния почвенного покрова.

Разработана методика создания цифровой среднемасштабной почвенной карты для территории Выборгского района Карельского перешейка.

Методика разработана с учетом:

- современных цифровых технологий.
- новых почвенных форм и структур почвенного покрова, появившихся под антропогенным воздействием на данной территории за последние десятилетия.
- современной почвенной классификации («Классификация и диагностика почв России» (2004г)).
- новых научных знаний о почвах района, полученных в результате почвенных исследований за последние 50 лет.

Использование спутниковых данных в данной методике позволяет повысить детальность карт, геоинформационный формат открывает широкие возможности для сопряженного анализа почвенных данных с другими картографическими сведениями (о рельефе, растительности, специфике использования земель, социально-географической информации и др.), для организации мониторинга почв. Использование современных геоинформационных технологий позволяет осуществить корректировку среднемасштабных почвенных карт путем коррекции границ почвенно-картографических выделов и их содержания. Причем эти работы могут быть выполнены при сравнительно небольших временных и трудовых затратах.

Создана почвенная карта масштаба 1:200000 на территорию Выборгского района Карельского перешейка. При составлении карты использовались следующие материалы:

Финские карты территории Карельского перешейка масштаба 1:100 000

Финские карты территории Карельского перешейка масштаба 1: 20 000

Почвенная карта Ленинградской области масштаба 1:300 000

Топографическая карта Карельского перешейка масштаба 1:100 000

Аэрофотоснимки (Google и Яндекс)

На карте, помимо контуров естественных почв и почвенных комбинаций, выделены контуры:

- почв и почвенных комбинаций, характерных для населенных пунктов, садоводств
- непочвенных образований и почв первичного ствола почвообразования (карьеры, газонефтепроводы)
- антропогенно-нарушенных почв (турбированные – на территории военных полигонов, торфоземы)
- агропочв в современных границах сельскохозяйственных угодий
- залежных земель.

ИЗМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АГРОТЕМНО-СЕРОЙ ПОЧВЫ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ СУЛЬФАТОМ КАДМИЯ

Митракова Н.В., Ерёмченко О.З.

ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

mitrakovanatalya@mail.ru

В условиях земледелия почвы меняют свои характеристики и функционирование. В Пермском крае плодородными почвами являются серые почвы, занимающие относительно небольшие площади и имеющие особую экономическую ценность.

Цель исследования – изучить изменение агрохимических свойств агротемно-серой почвы по сравнению с природной, а также оценить по реакции тест-культуры ее устойчивость к загрязнению солью кадмия.

Объектами исследования являлись темно-серая легкоглинистая почва и агротемно-серая легкоглинистая реградированная (залежная) почва. Образцы для исследований были взяты из гумусовых горизонтов (с глубин 2-12 см и 12-22 см) природных и агропочв в пятикратной повторности. Почвенные пробы загрязнили сульфатом кадмия из расчета 500 мг/кг почвы; затем на них в течение 10 дней выращивали кресс-салат, у которого были измерены высота и масса растений. У растений определили уровень редокс-активности.

В агротемно-серой почве достоверно понижено содержание гумуса. В темно-серой почве оно варьирует в слое 2-12 см от 7,4 до 12,9 % и в слое 12-22 см от 6,4 до 12,6 %. Тогда как в агротемно-серой почве количество гумуса изменяется в интервале 3,7-5,3 %. Из-за потери гумуса емкость катионного обмена в агропочве в 1,2 раза ниже, чем в природной.

Агротемно-серая почва в результате известкования характеризуется нейтральной реакцией почвенного раствора и низкими показателями обменной кислотности. Величина $pH_{вод}$ со значений 5,8-5,7 в темно-серой почве изменилась до 6,7 в агротемно-серой почве; значения $pH_{сол}$ повысилось от 4,8-4,7 до 5,6. В темно-серой почве гидролитическая кислотность 13,5-14,3 мг-экв/100 г почвы, в агротемно-серой почве – 4,2 мг-экв/100 г почвы. Степень насыщенности основаниями в агротемно-серой почве в 1,3 раза превышает этот показатель в темно-серой почве.

Содержание подвижного калия в агротемно-серой почве не существенно отличалось от природной почвы. Количество подвижного фосфора повышено в среднем на порядок: в природной почве - 2,6 мг/100 г почвы, а в залежной - 33,5 мг/100.

При высокой дозе загрязнения кадмием загрязненная залежная почва показала высокий уровень биологической активности. Кресс-салат, выращенный в условиях загрязнения, снижал показатели высоты и массы на 20-30 % относительно контроля лишь на половине исследованных образцов. На остальных пробах не отмечено достоверных изменений его

показателей. Кресс-салат, выращенный на загрязненной почве отличился повышенной редокс-активностью, экстракты растений в восстановительных процессах были активнее на 22-62 %.

ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ НА РАЗДЕЛЬНОЕ И КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ АЛЮМИНИЯ И КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕГО УДОБРЕНИЯ СИЛИПЛАНТ

Небышенкова Н.С., Амосова Н.В.

Обнинский институт атомной энергетики – филиал ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия

natali.nebyschenkova@yandex.ru

Защеление почв приводит к их деградации и повышению риска снижения урожайности возделываемых сельскохозяйственных культур. На защеленных почвах увеличивается подвижность тяжелых металлов, в том числе алюминия, и его уровень может достигать токсичных значений, что отрицательно сказывается на развитии коневой системы растений. Для снижения негативных последствий все больше применяются препараты, оказывающие влияние не только на ростовые процессы, но и на устойчивость растений к различным стресс-факторам внешней среды. Одним из таких препаратов является Силиплант. Он содержит 7,5-7,8 % кремния и микроэлементы в хелатной форме, легко доступной для растений. Кремний повышает доступность для растений фосфора, калия, кальция и ряда других элементов питания и в то же время снижает поступление тяжелых металлов.

Целью работы явилось изучение токсического действия ионов алюминия на проростки ярового ячменя различных сортов и оценка возможности снятия негативного эффекта за счет обработки семян кремнийсодержащим удобрением Силиплант. В качестве объекта исследования были выбраны 3 сорта ячменя ярового (*Hordeum vulgare* L.): Зазерский 85, Рамблер и Бровар. Эффект воздействия ионов алюминия и/или Силипланта на проростки ячменя определяли по морфометрическим (энергия прорастания семян) и цитогенетическим (частота хромосомных aberrаций, митотический индекс) показателям. Для обработки результатов исследования использовали стандартные статистические методы. Было установлено, что повышенное содержание ионов алюминия в растворе для проращивания приводило к снижению энергии прорастания и уменьшению митотического индекса по сравнению с контрольными значениями. Но проращивание семян ячменя, обработанных Силиплантом, в растворе алюминия приводило к снятию негативного эффекта. Также было выявлено увеличение частоты хромосомных aberrаций приблизительно в 1,5 раза в растворе с повышенным содержанием ионов алюминия. Семена, обработанные Силиплантом, снижали этот показатель на 30-60 %. Установлено, что часть сортов оказались очень чувствительными к действию ионов алюминия, другие – устойчивыми, а часть - с промежуточными значениями. Следовательно, для повышения эффективности применения кремнийсодержащего удобрения Силиплант в качестве антистрессового фактора в технологиях возделывания зерновых культур требуется учитывать сортовую чувствительность и корректировать, возможно, нормы внесения или способ применения этого физиологически активного соединения.

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВАХ ПРИМОРСКИХ КОС ПОБЕРЕЖЬЯ ТАГАНРОГСКОГО ЗАЛИВА АЗОВСКОГО МОРЯ

Невидомская Д.Г., Куксова Е.Г.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

dnevidomskaya@mail.ru

Экологическая диагностика прибрежных экосистем в зоне контакта моря и суши является весьма актуальной научной и практической проблемой сегодняшнего дня. Хозяйственная деятельность в акватории Таганрогского залива Азовского моря, на водосборных площадях и в береговой зоне сопровождается мощными техногенными процессами: развитием судоходства,

дноуглубительными работами, разведкой и добычей полезных ископаемых, развитием портовой инфраструктуры, химическим загрязнением.

Цель работы – оценка экологического состояния почвенного покрова приморских кос побережья Таганрогского залива Азовского моря по содержанию микроэлементов.

Маршрутно-полевые исследования проводили на станциях мониторинга российской территории северного и южного побережий Таганрогского залива Азовского моря. Разнообразие экологических условий в прибрежных территориях Таганрогского залива обусловили формирование различных типов почв. Нами были описаны и исследованы аллювиальные насыщенные слоистые почвы, аллювиально-луговые насыщенные почвы, песчаные примитивные почвы и соровый солончак.

Общее содержание микроэлементов в почве анализировали рентген-флюоресцентным методом.

Общее содержание микроэлементов в почвах кос побережья Таганрогского залива отвечает их фоновому уровню. Незначительное увеличение содержания меди (62,1-63,0 мг/кг) и цинка (103,8 мг/кг) относительно ПДК в профиле солончака связано с гидрогенным накоплением исследуемых элементов, обусловленным изменениями окислительно-восстановительной обстановки и активными трансформациями в минеральной фазе оглеенных горизонтов, выполняющих роль геохимических барьеров. Аллювиально-луговые насыщенные песчаные и супесчаные почвы, аллювиальные насыщенные слоистые почвы и песчаные примитивные почвы характеризуются низкими концентрациями микроэлементов, что связано с легким гранулометрическим составом, невысоким содержанием органического вещества и низкой емкостью катионного обмена. Аллювиально-луговые насыщенные почвы среднесуглинистые и тяжелосуглинистые выделяются наибольшим содержанием микроэлементов. Анализ общего содержания микроэлементов в почвах кос побережья Таганрогского залива практически не превышает значений ПДК и не вызывает опасений для рекреации. Показано, что интенсивность накопления микроэлементов в почвах напрямую обусловлена экологическими условиями формирования почв и их буферными свойствами.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-05-00586 А и Министерства образования и науки № 5.885.2014/К.

ПОЧВЕННО-АРХЕОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МОГИЛЬНИКА «ЕКАТЕРИНОВСКИЙ МЫС» САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Овчинников А.Ю.

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино, Россия

ovchinnikov_a@inbox.ru

Проведены почвенные исследования на археологическом памятнике «Екатериновский мыс», находящегося в Самарской области, с целью реконструкции палеоэкологической условий. Территория района находится в пределах Восточно-Европейской равнины на левобережье р. Волги.

Почвы изучались в археологическом раскопе раннеэнеолитического могильника и для сравнения в фоновом разрезе, заложенных на пологой водораздельной поверхности 1-й надпойменной террасы р. Безенчук, левобережного притока р. Волги.

Исследования показали, что в раскопе могильника верхняя часть почвы сильно нарушена, турбирована. В фоновом разрезе почва имеет естественное стратиграфическое сложение горизонтов, с выраженными карбонатами в виде присыпки и конкреций. Почвенные горизонты очень плотные, местами слитые, что может быть связано с очень сухим летом и возможным олуговением почв за счет организованного Саратовского водохранилища.

В могильнике – почвы исследовались на северной экспозиции южной стенки раскопа длиной 14 м. В стенке располагались погребальные сооружения на расстоянии около двух метров друг от друга. В связи со строительством рыбного завода и дачного массива верхняя часть гумусовых горизонтов была значительно уничтожена и в стенке раскопа не сохранилась. Частично сохранившиеся гумусовые подгоризонты подстилает окarbonаченный горизонт А1Вса, который интенсивно проработан макробиотой. Горизонт А1Вса и подстилающий его

горизонт В2А1са (в археологии - «материк»), интенсивно испещрены кротовинами разных размеров и ориентации и выполненными материалом серого цвета гумусовых горизонтов А1 и А1Вса. Из горизонтов А1 и А1Вса вглубь проникают тонкие языки-трещины (трещины промерзания или иссушения) выполненные гумусированным материалом. Ритуальные погребения в археологическом могильнике приурочены к горизонту А1Вса и в основном расположены в горизонте В2А1са.

Изучаемый уникальный археологический памятник требует дальнейших исследований, но на предварительном этапе можно заключить следующее. Могильник расположен в краевой зоне надпойменной террасы; кротовинами проработаны горизонты: А1, А1Вса и В2А1са; сооружался в эпоху раннего энеолита (возраст 5-7 тыс. л.н.), что вполне может говорить о том, что материал здесь был достаточно сухим и пригодным как для поселения биоты, так и при сооружении человеком ритуальных погребений. Захоронения сооружались на возвышенной части надпойменной террасы над руслом реки. Сформированный здесь – чернозем обыкновенный, прошел естественный природный процесс почвообразования, при участии антропогенеза. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ грант № 15-04-04418 А.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕРЕНИЯ СУБСТРАТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ДЫХАНИЯ ДЛЯ РАСЧЕТА ПОЧВЕННОЙ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ

Роговая С.В., Иващенко К.В.

ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино, Россия
rogovaja7@mail.ru

Микробная биомасса – важный компонент почвы. Скорость субстрат-индуцированного дыхания (СИД) в результате окисления и соокисления внесенной в почву глюкозы используют для расчета микробной биомассы. Основное требование связано с определением концентрации глюкозы и временем инкубации обогащенного образца.

Объекты – подзол иллювиально-железистый (растительные и минеральные горизонты, лес), дерново-подзолистая и серая лесная (0-10 см: лес, пашня, залежь, город), чернозем типичный (0-10, 10-50, 50-100, 100-150 см: степь, пар, пашня, город), всего 69 образцов. Растительные горизонты содержали 20-50% $C_{\text{общ}}$, минеральные – $\geq 1-7\%$ $C_{\text{орг}}$, рН 3.5-8.0. Образцы предынкубировали (масса ≤ 100 г, 22°C, 55% полной влагоемкости, 7 сут.). Навеску (0.5-2 г) помещали во флакон (15 мл), добавляли водный раствор глюкозы (0.1 мл г⁻¹) разной концентрации (2, 5, 10, 15, 20 мг г⁻¹), герметично закрывали и инкубировали (22°C) от 2 до 4.5 ч (интервал 0.5 ч). Пробу газовой фазы флакона отбирали и вводили в хроматограф для определения концентрации CO₂ и расчета скорости СИД (мкл CO₂-С г⁻¹ почвы ч⁻¹).

Установлено, что наибольшее СИД дерново-подзолистой почвы и чернозема (0-10 см) разных экосистем (лес, степь, пашня, город) было при широком интервале концентрации глюкозы (2-15 мг г⁻¹). СИД составило 9.2, 6.5 и 49.0 для леса, пашни и города дерново-подзолистой почвы и 33.0, 14.5 и 5.0 мкл CO₂-С г⁻¹ ч⁻¹ для степи, пашни и города (промышленная зона) чернозема. Варианты эксперимента с указанными концентрациями глюкозы значимо ($p \leq 0.05$) не различались. Однако высокая концентрация глюкозы (20 мг г⁻¹) в изученных почвах не способствовала увеличению СИД (возможно токсическое действие). Поэтому в дальнейших экспериментах концентрация глюкозы составляла 10 мг г⁻¹ почвы. Начальное максимальное СИД растительных и минеральных горизонтов подзола регистрировали в интервале 2-3 ч после обогащения глюкозой. В дерново-подзолистой почве такую скорость СИД регистрировали через 2.5 ч инкубации (лес, город) и 4 ч (пашня), а в серой лесной – 2 ч (залежь, пашня). В черноземе верхних слоев (≤ 50 см) промышленной зоны города начальное максимальное СИД достигалось через 2.5 ч, в степи и на пару – позже (3-4 ч), в нижележащих слоях (≥ 50 см) чернозема этот показатель фиксировали не ранее, чем через 3.5 ч.

Таким образом, выявлены условия определения СИД (10 мг глюкозы г⁻¹, 2-4 ч инкубации) разных типов почв, экосистем и почвенных локализаций для расчета содержания углерода микробной биомассы.

СТРУКТУРНО-МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТАЕЖНЫХ ПОЛУГИДРОМОРФНЫХ ПОЧВ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ

Холопов Ю.В.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ УрО РАН, Петрозаводск, Россия

Vegalyn@mail.ru

Изучены реологические свойства коагуляционной структуры полугидроморфных почв, формирующихся под пологом еловых зеленомошно-политриховых лесов. Объектами исследования послужили сезонно-мерзлотные почвы средней (разрезы Р-8-Х и Р-10-Х, координаты соответственно 61°38' с.ш., 50°43' в.д. и 61°58' с.ш. и 54°05' в.д.), северной (Р-3-Х 64°51' с.ш. 57°37' в.д.) и крайнесеверной (Р-4-Х. 66°39' с.ш. 62°30' в.д.) тайги. По физико-химическим свойствам рассматриваемые почвы во многом близки. Они обладают высокой кислотностью, малогумусны, выщелочены от обменных оснований, оглеены по всему профилю. К северу степень оглеения профиля нарастает. Гранулометрический состав и морфологическое строение профилей исследованных почв имеют некоторые особенности. В средней тайге почвы (разрезы Р-8-Х, Р-10-Х) развиты на пылеватых легких и средних суглинках. Их профиль характеризуется текстурной дифференциацией. Почвы северной (Р-3-Х) и крайнесеверной (Р-4-Х) тайги развиты на пылеватых супесях и легких суглинках, подстилаемых пылеватыми средними суглинками. Профиль данных почв характеризуется наличием криометаморфических горизонтов – CRM. Специфика морфо-генетических и физико-химических свойств рассмотренных почв нашла свое отражение в структурно-механических особенностях. В целом, рассматриваемые почвы характеризуются преобладанием в почвенной структуре слабых коагуляционных типов связей, малоустойчивых к механическим нагрузкам. При этом устойчивость снижается в ряду от среднетаежных к крайнесеверотаежным почвам.

Коагуляционная структура способна к самопроизвольному восстановлению после механического разрушения (тиксотропия). Тип восстановления коагуляционной структуры элювиальных горизонтов исследованных почв – тиксотропно-тиксотропно-илювиальный, иллювиальный – реопектический. Прочность коагуляционных связей в почвах зависит преимущественно от наличия илестых и коллоидных частиц органо-минеральной природы и аморфных форм железа. В почвах северной и крайнесеверной тайги снижены агрегированность и восстановительная способность межчастичных структурных связей. Почвы крайнесеверной тайги характеризуются тиксотропно-пльвинными свойствами, что сближает их с тундровыми глеевыми почвами.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПОГОДНЫХ ЯВЛЕНИЙ НА ЭМИССИЮ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА ИЗ ПОЧВ: РЕЗУЛЬТАТ ИМИТАЦИОННОГО ПОЛЕВОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Хорошаев Д.А.^{1,2}, Лопес де Гереню В.О.², Курганова И.Н.², Благодатская Е.В.²

¹ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт;

²ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино, Россия

dinhhot@yandex.ru

Увеличение частоты и силы температурных аномалий сильно влияет на потоки углекислого газа (CO₂) в наземных экосистемах. Цель данной работы заключалась в изучении влияния засух различной продолжительности и процессов промерзания разной интенсивности на дыхание почв (ДП) в условиях манипуляционного полевого опыта.

Для имитации экстремальных погодных явлений на серых лесных почвах было заложено 12 площадок (2х2 м), половина которых находилась под луговой растительностью, а другая – под паром. В летний период были организованы засухи различной продолжительности: длительная (82 дня без осадков) и две короткие (30 и 48 дней без осадков). Контролем служили площадки с регулярным поливом. В зимний сезон на тех же площадках изучали влияние режимов промерзания – оттаивания на ДП в вариантах с утеплением (без промерзания почвы) и

с сильным промерзанием почвы (полное удаление снега с площадок). Контролем выступали площадки с естественной высотой снежного покрова. Определение ДП проводили методом закрытых камер 2-3 раза в неделю.

Суммарное ДП на всех площадках за летний период изменялось от 169 до 128 г С/м². В результате засух ДП по сравнению с контролем на луговых участках снизилось на 30%, а под паром – на 10%. Продолжительность засухи не оказала существенного влияния на суммарное ДП за время эксперимента. Обнаруженное усиление ДП при прерывании засухи (обильном увлажнении) составило 2-10% от суммарного ДП за весь период эксперимента.

Суммарное дыхание почв под луговой растительностью в зимний период (135 дней эксперимента) на контрольных и освобожденных от снежного покрова участках изменялось от 34,7 до 44,0 г С/м², а на утепленных участках оно составило 111,7 г С/м². На парующих площадках, в отличие от покрытых растительностью, наблюдалось снижение потоков СО₂ в 1,3-2,1 раза. Скорость выделения СО₂ из полностью промерзших почв была крайне мала и варьировала от 0,14 до 0,24 г С/м²/день. Во время оттепелей интенсивность выделения СО₂ возрастала в 1,6-2,9 раза в зависимости от варианта.

Таким образом, можно заключить, что в результате засух суммарное дыхание почв в летний период снижалось на 10-30% в зависимости от наличия растительности на площадках, в то время как продолжительность засухи не оказала существенного влияния на суммарное ДП. Промерзание почв оказывает существенное влияние на потоки углекислого газа из почв зимой, снижая их в 2,5-3 раза по сравнению с не промёрзшей почвой. Работа выполнялась при поддержке гранта РФФ 14-04-0625 и РФФИ 15-04-05156а.

СОДЕРЖАНИЕ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ Fe И Al В ПОЧВАХ ВЕРХОВЫХ БОЛОТ ПСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Шипкова Г.В.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

galina_shipkova@mail.ru

Содержания Fe и Al в почве находится под прямым влиянием подстилающих пород. Fe, типоморфный элемент ландшафтов кислого глеевого класса, сильно связан с органическим веществом, Al поступает главным образом из подстилающих суглинистых пород и может служить в определенной степени индикатором близости залегания почвообразующих пород.

Исследовались почвы Полистово-Ловатской болотной системы и Радиловского массива на территории Псковской области. Они характеризуются мощным торфяным слоем, высокой подвижностью органического вещества в условиях кислой реакции среды (рН от 4,43 до 4,81). Преобладают торфяные олиготрофные с различной степенью разложения растительных остатков бурого цвета, бедные элементами минерального питания, представлены торфяные эутрофные темного цвета с большей долей элементов. Оба подтипа присутствуют как в ненарушенном состоянии, так и подвергшиеся пожарам и осушительным мелиорациям для торфоразработок. Торфяные олиготрофные пирогенные почвы характеризуются повышенной по сравнению с неподвергшимися пожарам почвами зольностью. В не подвергшихся антропогенным нарушениям торфяных эутрофных иловато-торфяных почвах присутствуют признаки оглеения в виде сизых пятен. Пробы почв были отобраны согласно требованиям ГОСТ 17.4.4.02-84 по слоям 0-2,5, 2,5-5, 5-10, 10-15 см. Содержание Fe и Al в почвенных образцах исследовали рентген-флуоресцентным методом на спектрометре спектроскан «МАКС-GV». Для определения Fe в торфяных олиготрофных почвах с высоким содержанием слабо разложившихся растительных остатков использовали метод кислотного разложения и определения на атомно-спектрофотометре «Спектр-5-4».

Содержание Fe в торфяных олиготрофных, ненарушенных торфоразработками почвах, колебалось от <0,01% до 0,19, в среднем составляя 0,03%. В торфяных олиготрофных пирогенных почвах, нарушенных торфоразработками, оно возрастает до 0,13-0,24% (в среднем 0,18%), Al имеет значения 0,18-0,25% (0,22%). В торфяных эутрофных иловато-торфяных пирогенных почвах, естественных и подвергшихся торфоразработкам, содержание Fe равно 0,16-0,24% (0,19%) и 0,59-1,42% (1,10%), Al 0,20-0,22% (0,22%) и 0,43-0,81% (0,66%) соответственно. В пирогенных почвах среднее содержания Fe увеличивается в 6 раз как в

естественных, так и нарушенных торфозаботками 1980-гг. Содержания Fe и Al в ненарушенных эвтрофных и нарушенных олиготрофных почвах имеют близкие значения. Больше всего элементов минерального питания содержат торфяные эвтрофные иловато-торфяные почвы (в 3 раза больше Al, и в 5-6 раз и более, чем на порядок Fe), что связано с их положением в рельефе и близостью подстилающих глинистых пород, а также большим разложением органики. Fe и Al характеризуются схожими кривыми распределения с ярко выраженным максимумом в подповерхностном слое в нарушенных торфозаботками эвтрофных почвах.

Таким образом, содержание Fe и Al обусловлено как природными особенностями (свойствами самих почв, близостью минеральной основы, влиянием пожаров), так и антропогенными факторами (торфозаботками).

СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И БИОМЕДИЦИНА»

MODEL STUDIES OF HEMODYNAMICS OF CARDIOVASCULAR SYSTEM FOR RESEARCH OF CEREBRAL ANEURYSM GENESIS

Frolov S.V.⁴, Sidneev S.V.⁴, Lishchuk V.A.³, Liepsch D.¹, Balasso A.²

¹Munich University of Applied Sciences; ²Technical University of Munich, Munich, Germany; ³Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева, Москва; ⁴Тамбовский государственный технический университет, Тамбов, Россия

ssindeev@yandex.ru

One of the most common disorders of circulation is a cerebral aneurysm. Damage of the vessel wall is caused by local hemodynamics disorders; therefore, the study of cerebral hemodynamics plays a key role in identifying the causes of the emergence and development of the aneurysm. The purpose of this work is to present an integrated approach with usage of both mathematical modeling and experimental method.

For the investigation of cerebral artery circulation it is proposed to use a multiscale mathematical model of hemodynamics, which is a set of mathematical models of circulation with different levels of detail. It is proposed to develop a 0D model to describe all major compartments of cardiovascular system and to describe heart in terms of physiology.

Developing the one-dimensional hemodynamics (1D model) model of arterial tree it is planned to describe upper body arteries as a set of quasi-one-dimensional vessels.

Using 3D model it is planned to describe the cerebral artery local hemodynamics. The researcher will receive information about a blood flow rate and blood pressure at any point of the artery. According to simulation results risk of developing an aneurysm of the cerebral artery can be predicted.

In the experimental setup the silicone rubber models used to provide transparent, true-to-scale replicas of human vessels. To obtain geometry data of patients, digital images from the MRI or CT are segmented. The vessel's model is mounted on an x-y-z-moving table so that velocities can be measured and recorded very precisely at each point of interest. To simulate the physiological human flow conditions we use a blood-like fluid developed in IFL laboratory.

Velocity, pressure and flow rate data obtained with the above described experimental set-up allow to correlate with the mathematical simulation in order to evaluate its reliability. The aim is to determine when there is a rupture of the aneurysm, and to provide criteria to avoid a rupture. This is done through the comparison and analysis of the experimental data with the data calculated by means of computer simulation in a multiscale mathematical model of hemodynamics.

DEVELOPMENT OF A MULTICELLULAR MAGNETIC 3D SPHEROIDS FROM DIFFERENT CELL LINES

Rozhina E.V., Naumenko E.A., Tarasova E.Y., Danilushkina A.A., Fakhrullin R.F.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

rozhinaelvira@gmail.com

Multicellular spheroids are ordinary and widely used 3D cell culture systems. Between various approaches have been used to generate 3D spheroids nowadays we applied the method of hanging drops. This methodology could be applied in tissue engineering, drug screening and in nanomedicine as well. An important achievement is the use of various nanomaterials, mainly nanoparticles in medical research.

Three following human cell lines were used in our study: Human cervical carcinoma cells (HeLa), Human lung adenocarcinoma epithelial cells (A549), Human hepatocyte carcinoma cells (Hep3B) and mesenchymal stem cells (MSK). We find the ability of spheroids formation from all type of cells we used. We observed the evolution of spheroids within seven days formed from cells coated by magnetic nanoparticles. Magnetic nanoparticles were synthesized from iron oxide magnetic nanoparticles and stabilized with PAH (MNPs-PAH). Under the gravitation force in the hanging drops the cellular aggregates were formed after 24 hours and the compact spheroids were formed after 48 hours. Moreover we formed multicellular spheroids from A549 and Hela covered by MNPs.

Using different types of viability tests and images, obtained by light and fluorescent microscopy, we can conclude that MNPs-PAH do not adversely effect on the survival of cells and formation of spheroids from cell cultures. Spheroids formed from magnetic cells demonstrated the ability to move under the influence of a constant magnetic field.

This work was partially supported by RFBR 15-04-99660 grant and performed according to the Russian Government Program of Competitive Growth of Kazan Federal University.

MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY OF THE ISCHEMIC BRAIN UNDER LITHIUM TREATMENT INDICATES CHANGES IN METABOLITES

Silachev D.N.¹, Gulyaev M.V.³, Pevzner I.B.¹, Zorova L.D.², Plotnikov E.Y.¹, Zorov D.B.¹

¹Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University;

²International Laser Center, Lomonosov Moscow State University; ³Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine, Moscow, Russia

silachevdn@mail.genebee.msu.ru

In the last two decades, a growing body of evidence has shown that lithium has several neuroprotective effects. Lithium is a classic drug for the treatment of bipolar disorder. Most neuroprotective effects of lithium were shown only with pretreatment and prolonged use, for example, protecting against glutamate-induced apoptosis and ischemia-induced brain damage. The major mechanism underlying lithium-induced neuroprotection is inhibition of glycogen synthase kinase-3 β , however, the certain metabolic changes mediated by lithium is still unclear. At the same time, many studies indicate mitochondrial dysfunction in stroke. Along these lines, in vivo analysis of metabolites associated with mitochondrial function may provide the key to understanding the mechanisms of brain damage and neuroprotection by lithium.

In this study, ¹H-MRS was employed to examine the metabolic changes in the cortex and thalamus during the acute phase of rat brain ischemia/reperfusion and those after lithium treatment.

¹H-MRS used for detecting the ratios of Cho/Cr, Glu/Cr, Lac/Cr, mI/Cr, NAA/Cr and Lip0.9/Cr at 1, 2, 3 and 24 h after occlusion of the middle cerebral artery (MCAO) revealed that significant metabolic changes in the infarct area were obvious beginning at 1 h after MCAO for lactate, myo-inositol and N-acetyl aspartate. ¹H-MR spectra showed significant elevation in the lactate and myo-inositol and a marked decrease in N-acetyl aspartate 24 h after MCAO. In a post-MCAO period we detected decreased spectra of two metabolites – at 2 and 3 h time points for glutamate and at only 2 h time point for choline. At 24 h after MCAO, the Lip0.9/Cr ratio in the vehicle group was significantly higher than that in the control group. Quantitative analysis of ¹H-MRS in the group treated by lithium revealed a persistent decrease of lactate levels after the occlusion onset compared to vehicle group at every time point explored. In addition, in lithium-treated animals when compared with a vehicle group, N-acetyl aspartate levels in the damaged area were elevated starting from 2 h of a post-ischemic period and kept high until 24 h.

Therefore using this approach one can estimate the severity of brain damage and effectiveness of applied therapy. In that way we were able to show lithium-mediated neuroprotection, associated with preserving of mitochondrial function.

This study was supported by RFFI 14-04-00484 and MK-2508.2014.4.

EVALUATION OF TOXIC EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES

Tarasova E.Y., Naumenko E.A., Rozhyna E.V., Fachrullin R.F.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

evgenechka__@mail.ru

Silver nanoparticles are one of the most promising types of metal nanoparticles. Their production and scope is constantly expanding, which can lead to a negative impact on human health and the environment, in connection with the evaluation of the toxic effect of nanoparticles of different chemical composition and structure is actual problem.

In this work we have investigated the toxicity of silver nanoparticles stabilized with polyallylamine hydrochloride (PAH). As target cells were selected human lung carcinoma cells A549.

During incubation of A549 cells with silver nanoparticles (AgPAH) in the range of concentrations from 0.8 to 105 µg/ml was found the concentration of AgPAH which inhibit the total activity of mitochondrial dehydrogenases on 50% (IC50) as 52.5 µg/ml. Inhibitory activity is observed even at the short-term (1 hour) incubation. The strongest impact on the ability of cells to transform the tetrazolium salt to formazan was provided while seeding A549 simultaneously with silver nanoparticles. Interaction of cells with AgPAH nanoparticles in concentration 0.8 µg/ml had no significant deviation was observed in comparison with the control.

Endocytotic activity has been inhibited by the action of dose of AgPAH two times lower than the IC50 measured in cellular respiration activity test at short exposure with simultaneous seeding as well as co-incubation of A549 cells with AgPAH for 24 hours.

Thus, these data suggest that nanoparticles AgPAH able to exert a cytotoxic effect on the human lung carcinoma cells A549.

This work was partially supported by RFBR 15-04-99660 A grant and performed according to the Russian Government Program of Competitive Growth of Kazan Federal University.

ВЛИЯНИЕ «ГОРНОЙ БОЛЕЗНИ» НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЫШЛЕНИЯ

Аккизов А.Ю.

ФГБУН ГНЦ РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Центр медико-экологических исследований Нальчик, Россия

akkizov@mail.ru

Мышление как непрерывное решение разных и часто противоречивых задач, давно является объектом психофизиологии. Особенно актуальны исследования процесса принятия решения в экстремальных условиях, к которым относится и высокогорье. У человека в условиях высокогорья быстро развиваются гипоксия, гипотермия и обезвоживание, способствующие возникновению целого комплекса психосоматических нарушений – «горной болезни». Опасность этого состояния заключается в непредсказуемости психофизиологических реакций человека, от которых зависят его когнитивные способности. Поэтому поведение человека в условиях высокогорья довольно сложно предсказать.

Целью исследования явилась оценка влияния симптомов горной болезни на быстроту мышления в условиях высокогорья. В нем приняли участие практически здоровые, но неадаптированные к высокогорью добровольцы (возраст ≈ 22 года; рост ≈ 162 см; вес ≈ 60 кг), которые совершили серию стремительных подъемов по склону Эльбруса (высшая точка – 3500 м н. у. м.; перепад – 3000 м; отрезок с 2300 до 3500 м – на гондоле канатной дороги со скоростью 120 м/мин). Быстроту мышления оценивали тестом «Арифметический счет» (решить в уме 70 примеров за 10 минут), а наличие и выраженность симптомов острой горной болезни – опросником «Lake Louse self-report questionnaire».

Мыслительная задача каждым испытуемым решалась путем построения индивидуальной стратегии, менявшейся в зависимости от частоты и выраженности симптомов горной болезни. Выявленные стратегии были ориентированы преимущественно либо на качество, либо на количество решенных примеров. Причем обе стратегии в серии испытаний вели к прогрессу в скорости мышления, на фоне растущей частоты эпизодов горной болезни. Однако первая стратегия была сопряжена со снижением частоты ошибок, тогда как у второй этот показатель был стабильным. Замечательно то, что более эффективная стратегия, ориентированная на качество прохождения теста, была свойственна испытуемым, у которых эпизоды горной болезни наблюдались чаще и протекали острее.

Налицо парадокс: добровольцы с симптомами горной болезни, на фоне головных болей и головокружения, решали мыслительные задачи эффективнее, чем остальные. Эти данные вполне согласуются с гипотезой «жестких» и «гибких» звеньев в мозговом обеспечении психики, высказанной Н.П. Бехтеревой. Формализация и прогноз стратегий принятия решений в высокогорье поможет при создании новых алгоритмов для автономных систем управления (например, в рамках проектов освоения Арктики, Луны и т.д.).

УЧАСТИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ИЗМЕНЕНИИ АКТИВНОСТИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ САМОК КРЫС В МОДЕЛИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА

Акулова В.К., Тихомирова В.С.

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

vera@infran.ru

Стрессорные события вызывают каскад нейроэндокринных изменений в гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системе (ГГАС), конечным итогом которых является повышение в крови глюкокортикоидных гормонов. Активность ГГАС контролируется комплексными регуляторными механизмами по принципу отрицательной обратной связи с участием глюкокортикоидных рецепторов гиппокампа и неокортекса. Травматические стрессы нарушают функционирование этой гормональной оси и приводят к различным патологиям и, в частности, посттравматическому стрессовому расстройству (ПТСР), причем женщины страдают этим заболеванием чаще, чем мужчины. Показано также, что исходно измененная активность ГГАС может служить фактором риска развития психопатологии.

Целью нашего исследования являлось изучение особенностей формирования ПТСР-подобного состояния у самок крыс с повышенной стрессорной реактивностью. В качестве экспериментальной модели ПТСР использовали парадигму «стресс-рестресс», а в качестве экспериментальных животных с повышенной стрессорной реактивностью – половозрелых самок крыс, являющихся потомками матерей, подвергавшихся психоэмоциональному стрессу в последнюю треть гестации (пренатально стрессированные самки, ПС).

Исследования показали, что у ПС животных наблюдается прогрессивное снижение уровня кортикостерона в крови и увеличение стрессорного ответа ГГАС к моменту рестресса, который служит триггером для формирования ПТСР-подобного состояния. Такое нарушение активности ГГАС у ПС крыс вероятно обусловлено изменением плотности глюкокортикоидных рецепторов в гиппокампе и неокортексе, что подтвердилось при оценке числа иммунопозитивных к глюкокортикоидным рецепторам клеток и числа сильно- и слабо-иммунопозитивных клеток в данных областях мозга. Обнаружено увеличение числа сильно-иммунопозитивных клеток в зубчатой извилине гиппокампа и во 2-м и 5-м слое неокортекса к моменту рестресса, что свидетельствует об увеличении числа глюкокортикоидных рецепторов. Ранее нами было показано, что в парадигме «стресс-рестресс» ПС самки формируют ПТСР-подобное состояние, глубина и длительность поведенческих и гормональных проявлений которого существенно увеличивается по сравнению с животными, рожденными от интактных матерей. Мы полагаем, что ключевую роль в этом процессе играет низкий уровень кортикостерона и значительное усиление стрессорной реактивности ГГАС на момент предъявления повторного стрессорного воздействия, сопровождающееся увеличением числа глюкокортикоидных рецепторов в мозге.

ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ МАТЕРЕЙ НА СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

Артюхова О.А.

ФГБОУ ВПО Московский государственный гуманитарный университет им.

М.А. Шолохова, Москва, Россия

artyukhova86@bk.ru

Курение – это распространенная и массовая в мировом масштабе привычка, которая является социальной проблемой, наносящей урон, как здоровью отдельного человека, так и обществу в целом. По данным, опубликованным в 2014 году, в России в настоящее время регулярно курят 75% мужчин и 21% женщин. К концу окончания средней школы курят 53% юношей и 28% девушек. В вузах страны курят 75% юношей и 64% девушек.

Исследование проводили на базе отделения респираторно-вирусных инфекций грудного возраста ДГКБ №9 им Г. Н. Сперанского г. Москвы на протяжении 2013 – 2014 г. В исследовании приняли участие 100 детей, которым исполнился 1 год и их матери. Дети были

разделены на две равные группы, в зависимости от наличия привычки курения у матери. В ходе сбора анамнеза, было установлено, что все дети в течение первого года жизни получали достаточное питание, наследственная патология исключена. У детей первого года жизни были проанализированы распространенные заболевания, наличие которых может свидетельствовать о состоянии иммунной и дыхательной систем ребенка: 1 – острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), 2 – воспалительные заболевания дыхательной системы, 3 – заболевания уха. По данным исследования было установлено, что заболеваемость ОРВИ в группе детей чьи матери курят, в 1,56 раз больше чем в группе детей некурящих мам. Следующими по значимости заболеваниями для грудного возраста является бронхит и отит. Заболеваемость бронхитами в группе детей курящих мам в 5,75 раз больше чем в группе детей некурящих мам. Заболеваемость болезнями уха больше в 1,75 раз. Также обращает на себя внимание тот факт, что в группах детей курящих и некурящих матерей были отмечены случаи врожденных патологий. В случае детей курящих мам 2,3% от общего числа заболеваний (врожденный порок сердца, гидроцефалия). В случае детей некурящих мам 0,46% (гипоплазия левой почки). По ряду других заболеваний существенных отличий между группами не выявлено. При выделении групп эпизодически и часто болеющих детей в группе эпизодически болеющих детей некурящих мам вошло в 2, 18 раза больше чем детей курящих. В группе часто болеющих, детей курящих мам в 2,6 раз больше чем детей некурящих мам.

Зависимость состояния здоровья детей от наличия привычки курения их матерей показывает негативное воздействие компонентов табачного дыма (никотин, синильная кислота, мышьяк) в первую очередь на иммунную и дыхательную системы.

АССОЦИАЦИЯ С ПАНИЧЕСКИМ РАССТРОЙСТВОМ КОМПЛЕКСНЫХ ГАПЛОТИПОВ ГЕНОВ *ССК*, *ССК2R*, *ССК1R*, *МАОА*, *COMT*, *DBH*, *HTR1A*, *TPH1*, *SERT*, *PDE4B*, *BDNF*

**Афончикова Е.В., Наумова Е.А., Кондратьева Н.С., Анучина А.А, Кокаева З.Г.,
Азимова Ю.Э., Рудько О.И., Климов Е.А.
ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия**

alenaafonchikova@gmail.com

Значительная часть людей (от 2 до 5% популяции) на протяжении всей жизни страдает хроническим паническим расстройством (ПР) - заболеванием, которое характеризуется внезапными, регулярно повторяющимися атаками страха и тревоги, сопровождающимися выраженными вегетативными симптомами - паническими атаками (ПА). Литературные данные свидетельствуют о том, что в предрасположенности к развитию ПР могут играть роль полиморфные варианты генов, кодирующих основные ферменты и рецепторы нейромедиаторных систем. Ранее нами были отобраны основные гены-кандидаты, которые по литературным данным могут быть ассоциированы с ПР: гены, кодирующие нейропептид холецистинкинин (*ССК*) и переносчик серотонина (*HTR1A* и *SERT*), а также гены, кодирующие ферменты моноаминоксидазу А (*МАОА*); катехол-О-метилтрансферазу (*COMT*); триптофангидроксилазу (*TPH1*) и фосфодиэстеразу 4В (*PDE4B*).

Целью данной работы была оценка вклада в развитие ПР комплексных гаплотипов следующих генов: *МАОА* (VNT), *COMT* (rs4680), *SERT* (rs3813034), *TPH1* (rs1800532), *PDE4B* (rs1040716, rs502958, rs10454453), *HTR1A* (rs6295), *ССК* (STR, rs11571842), *ССК2R* (rs1805002, rs1805000), *ССК1R* (rs1800857, rs1799723, rs1800908), *BDNF* (rs6265, rs2049046) и *DBH* (rs141116007).

В работе использованы образцы крови пациентов с подтвержденным диагнозом ПР (DSM-V) и ПА не реже 1 раза в месяц, предоставленные лабораторией клинической неврологии ММА им. И.М. Сеченова (n=132) и образцы контрольной выборки необследованных жителей Москвы и Московской области, представленные станцией переливания крови г.Москвы (n=362). Оценку влияния полиморфных генов на развитие ПР проводили с использованием программы APSampler 3.6.1 (Wesfall-Young permutation $p <= 0.001$, на 1000 перемешиваний).

В результате работы нами выявлены частоты аллелей и генотипов указанных генов в группе больных и условно-здоровых жителей Москвы. Установлено что комбинация замен в генах *ССК2R* и *ССК1R* увеличивает риск развития ПР более чем в 6 раз, а наличие замен а гене

PDE4B приводит к увеличению риска развития заболевания в 25 раз. При этом наиболее часто встречающимися аллелями в первом случае является CCK1R_rs1800908:T, а во втором случае - PDE4B_rs10454453:T или PDE4B_rs502958:A или PDE4B_rs1040716:A. Роль холицистокининергической системы в развитии реакции тревоги и страха давно известна. Однако нам удалось доказать роль комбинации полиморфных вариантов генов данной системы в патогенезе патологической тревожности. Фосфодиэстеразу циклических нуклеотидов (PDE4B) ранее уже ассоциировали с шизофренией и биполярными расстройствами. Нами впервые показано ее участие, в комплексе с изменениями в других генах, в патогенезе панических расстройств. Таким образом, нами выявлены гаплотипы, ассоциированные с развитием ПР, и показана значительная роль полиморфизма генов CCK1R, CCK2R и PDE4B в патогенезе данного заболевания.

СВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ ИММУНИТЕТА С СОСТОЯНИЕМ КРЫЛОВОГО ДИМОРФИЗМА У КЛОПА-СОЛДАТИКА *PYRRHOCORIS APTERUS*

Балашов С.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

balaschov@gmail.com

У клопа–солдатика *P. apterus* имеется крыловой диморфизм, выраженный в существовании короткокрылых двукрылых и длиннокрылых четырехкрылых форм, появление которых отчасти определяется генетически, отчасти – влиянием температурных и фотопериодических условий. Причем соотношение этих форм зависит от происхождения популяции. В более северных популяциях вне зависимости от экологических условий преобладают короткокрылые имаго (более 90%), тогда как в южных популяциях доля длиннокрылых особей может достигать 40%. У них высокая температура и короткий день стимулирует повышение доли длиннокрылых особей. Для длиннокрылых особей характерно более продолжительное преимагинальное развитие, а также более продолжительный период до первой яйцекладки по сравнению с короткокрылыми. Не смотря на то, что у длиннокрылых особей развиваются крыловые мышцы, которые спустя несколько дней лизируются, обе формы не способны летать. Однако дневная локомоторная активность у длиннокрылых выше, по сравнению с короткокрылыми.

Мы исследовали биохимические и иммунологические параметры двух крыловых форм клопа-солдатика из Израиля. Мы не обнаружили различий между коротко- и длиннокрылыми особями по концентрации жиров и белков в теле насекомых. Тогда как активность фенолоксидазы – фермента, отвечающего за формирование меланиновой оболочки вокруг антигенов, была значимо выше у длиннокрылых особей на 26%. Также с помощью метода агаровых пластинок мы измерили антимикробную активность гемолимфы иммунизированных имаго по отношению к *M. luteus*. Измерения проводились на разных сроках жизни имаго: в день окрыления, через три дня и через семь дней. Антимикробная активность возрастала в течении первых дней жизни имаго. Различия между длиннокрылыми и короткокрылыми клопами были значимыми только на 3 сутки после окрыления. Антимикробная активность в этот период была выше в среднем на 20% у длиннокрылых клопов. В день окрыления и через 7 дней после окрыления различия были не значимыми.

Таким образом, длиннокрылые особи, выполняющие расселительную функцию, лучше защищены от возможных инфекций, а короткокрылые клопы больше ресурсов направляют на размножение.

Финансовая поддержка: РФФИ (грант 14-04-01156-а), грант СПбГУ 1.39.323.2014. Для исследований было задействовано оборудование ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ: МУЛЬТИФАКТОРНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Беленикин М.С.

ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова, ГБУЗ Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ,
Москва, Россия

genetics.nrcmpd@gmail.com

С развитием омиксных технологий и высокопроизводительных методов, они получают все большее распространение при проведении прикладных и фундаментальных биомедицинских исследований. Поиск молекулярных причин заболеваний необходим и при переходе к доказательной медицине. В течении нескольких лет мы используем экзомное и таргетное секвенирование для изучения неврологических, нервно-мышечных и онкологических заболеваний у детей (речь не идет о диагностике или оценке рисков развития заболеваний). Имеющийся опыт позволяет нам акцентировать внимание исследователей на наиболее важных моментах, на возможностях, ограничениях и применимости экзомного секвенирования (ЭС) в случае мультифакторных заболеваний.

Около 85% мутаций, вызывающих наследственные болезни сосредоточены в экзомной части генома. Анализ экзома дает обширную информацию, которую можно весьма гибко использовать при объяснении клинической картины заболевания. Однако оперирование только лишь инструментальной информацией без учета клинических данных легко приводит к ошибкам. Даже находимые у пациентов достоверно патогенные мутации не всегда проявляются по клинике (отчасти по причине малого возраста пациентов). Информация о клиническом и функциональном значении большей части найденных вариантов еще не представлена в научной литературе. Вероятность успеха выше в случае работы с моногенными формами мультифакторных заболеваний. Использование в исследованиях пробандов и родителей дает больше шансов на успех, позволяет исключить редкие полиморфизмы. ЭС не позволяет анализировать хромосомные aberrации (для их поиска есть соответствующие методы анализа). Один лишь факт использования ЭС не гарантирует успех, в результате исследований получается большое число вариантов, функциональное значение не описано в литературе или медицинских базах данных. Для эффективного применения ЭС в биомедицинских исследованиях равно важны все этапы: корректная постановка задачи; выбор правильной стратегии исследования; отбор пациентов для высокопроизводительных исследований; подробное описание клинической картины заболевания; секвенирование, гарантирующее максимально полное прочтение таргетных областей; обработка результатов; использование в исследовании и сравнении с пациентом родителей/здоровых родственников. ЭС - современный эффективный метод исследования, однако для избежания разочарований в прикладных исследованиях необходимо четко понимать применимость метода и ожидаемый результат. Несмотря на современную сложность анализа причин мультифакторных заболеваний, использование ЭС на практике позволяет нам выявлять причины заболевания и на основании полученных данных применять наиболее подходящие методы лечения.

ВЛИЯНИЕ IMD-0354, БЛОКАТОРА NF-κB-СИГНАЛИНГА, НА ЭКСПРЕССИЮ E3-ЛИГАЗ И РАЗВИТИЕ АТРОФИИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ

Белова С.П.¹, Немировская Т.Л.²

¹ФГБУН ГНЦ РФ - Институт медико-биологических проблем РАН;

²ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Swetbell@mail.ru

Атрофия скелетных мышц при их функциональной разгрузке вызывается как усилением процессов распада белков, так и снижением их синтеза. Распад этот в основном обеспечивается кальпаиновой и убиквитин-протеасомной системами. Убиквитинирование сократительных и

цитоскелетных белков осуществляют мышечно-специфические E3-убиквитинлигазы MuRF-1 и Atrogin1, экспрессия которых значительно увеличивается уже на третьи сутки функциональной разгрузки мышц. Что же является пусковым фактором, запускающим экспрессию E3-лигаз? До недавнего времени FOXO3 считался единственным транскрипционным фактором, запускающим экспрессию MuRF-1. Недавно Kandarian S. и соавт. показано, что NF-κB, а не FOXO3, необходимы для транскрипционной активации MuRF-1.

Целью работы – проверить, являются ли транскрипционные факторы NF-κB основными в запуске экспрессии E3-лигаз и развитии атрофии скелетных мышц при их функциональной разгрузке.

Мы вводили IMD-0354 (ингибитор ИККβ, блокирующий фосфорилирование IκBα) во время 3х-дневного вывешивания крыс. 21 самец крыс линии Wistar были распределены на 3 группы: контроль (С), вывешивание (HS) и вывешивание с введением IMD-0354 (IMD). Обнаружено, что вес m.soleus в группах HS и IMD снижался одинаково относительно уровня контроля (P<0.05). Показано, что уровень мРНК E3-лигаз MuRF-1 и Atrogin-1 в soleus вывешенных групп (HS и IMD) был достоверно выше, чем в группе контроля, причём в группе IMD он был существенно выше, чем в группе HS. Аналогичная картина была получена и при измерении уровня белка MuRF-1 (P<0.05). Уровень белка транскрипционного фактора P105 в цитоплазме был достоверно снижен только в группе HS (P<0.05), что может свидетельствовать о действии ингибитора на мышцу. Содержание другого транскрипционного фактора Vcl-3 сигнального пути NF-κB в цитоплазме было незначительно выше в группе HS, а уровень P50 не изменялся. Уровень белка фосфорилированного FOXO3 был ниже в группе HS (P<0.05), а в группе IMD выше (P<0.05), чем в контрольной группе. Мы исследовали звенья анаболических Akt-mTOR-S6K и MAPK/Erk сигнальных путей. Обнаружено снижение содержания pAkt и p90RSK-1 в обеих вывешенных группах (P<0.05).

Выводы: 1. По-видимому, на ранних сроках (3-е суток) основным фактором, запускающим экспрессию E3-лигаз, является некий альтернативный путь (Akt/ FOXO3), а не NF-κB, который задействуется на более поздних сроках. 2. Не обнаружено влияние ингибитора IMD на предотвращение атрофии m.soleus на ранних сроках функциональной разгрузки.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01632.

КОМПОЗИТНЫЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛИУРОНОВЫХ КИСЛОТ, ОПТИМИЗИРОВАННЫЕ ПО СОДЕРЖАНИЮ БЕЛКОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА, ЯВЛЯЮТСЯ ПЕРСПЕКТИВНЫМИ БИОСОВМЕСТИМЫМИ МАТЕРИАЛАМИ ДЛЯ НЕЙРОРЕГЕНЕРАЦИИ

Белоусов А.С.

ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

andrei-belousov@mail.ru

Данная работа посвящена оптимизации содержания белковых компонентов в разработанном нашей исследовательской группой биосовместимом матричном материале на основе модифицированных полиуроновых кислот и белков внеклеточного матрикса. Сочетание используемых компонентов составляет композиционный гидрогель, имитирующий естественный внеклеточный матрикс развивающейся нервной системы. Данный материал перспективен для применения в качестве консолидирующего субстрата при реконструктивной терапии травм центральной нервной системы.

Гидрогели получали по оригинальной методике, смешивая при определенных условиях необходимые количества стерильных растворов белков (и/или их растворителей), растворов модифицированных полиуроновых кислот и оригинального инициатора гелеобразования. Были получены композиционные гели с разным составом и соотношением компонентов. Для исследования функциональных свойств созданных материалов использовали клетки глиомы С6, а также нервные стволовые клетки крысы, которые вводили в состав гелей в процессе их формирования. Клетки культивировали в течение 9 суток, в процессе культивирования проводили прижизненное исследование их морфологии, с акцентом на их способность формировать отростки в системах трёхмерного культивирования. Для визуализации клетки

маркировали прижизненными биоконвертируемыми трейсерами CFDA SE и Calcein AM. Препараты анализировали методом мультифотонной *in vivo* микроскопии.

В гелях, на основе производных полиуроновых кислот, не содержащих белков внеклеточного матрикса, или включающих отдельные белковые компоненты, клетки оставались шарообразными и не образовывали отростков, сохраняя жизнеспособность клеток на уровне интактных культур. В гелях, включающих полную композицию выбранных белков, наблюдали формирование отростков различной морфологии. Установлены молярные соотношения компонентов, обеспечивающие формирование длинных отростков у значительной доли клеточных популяций в культурах глиомы С6 и культурах клеток нейронального ряда, дифференцирующихся из нервных стволовых клеток эмбрионального мозга крыс. Таким образом, выявлена зависимость доли отростчатых клеток от концентрации и соотношения компонентов композиционных гидрогелей. На основании полученных данных выбраны варианты композиционных гидрогелей, наиболее перспективные для создания биоинженерных аналогов нервной ткани и разработки средств регенеративной терапии травм нервной системы.

ФРАГМЕНТ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА АВП(6-9) И ЕГО СТРУКТУРНЫЙ АНАЛОГ УЛУЧШАЮТ ОБУЧЕНИЕ ЖИВОТНЫХ С ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ ПОДКРЕПЛЕНИЕМ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Белякова А.С., Воскресенская О.Г., Синюшин А.А., Каменский А.А.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

alixletter@yandex.ru

Целью представленной работы явилось исследование сравнительных характеристик С-концевого фрагмента аргинин-вазопрессина - АВП(6-9) и его структурного аналога с заменой Cys6 на D-Ser – Ac-D-SPRG – при их однократном интраназальном введении. Влияние препаратов на обучение с отрицательным подкреплением изучали на примере выработки условной реакции активного избегания болевого раздражителя по стандартной четырехдневной схеме.

Исследования проводили на половозрелых самцах нелинейных белых крыс. Препараты вводили в дозах 0,01, 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг веса животного. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя - дистиллированной воды. При введении исследуемых препаратов за 5 минут до эксперимента значимое увеличение параметров обучения было зарегистрировано только для животных, получавших Ac-D-SPRG. Увеличение количества выполненных реакций было зафиксировано для всех использованных доз. При введении препаратов за 15 минут до исследования АВП(6-9) вызывал увеличение количества выполненных реакций на третий день обучения у животных, получавших препарат в дозах 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг. Ac-D-SPRG приводил к увеличению количества выполненных реакций в день проверки сохранения навыка при его использовании в тех же дозах. При введении препаратов за 30 минут до начала эксперимента АВП(6-9) приводил к увеличению количества выполненных реакций в первый день обучения во всех использованных дозах. Ac-D-SPRG вызывал увеличение количества выполненных реакций на второй и третий день обучения, а также в день проверки сохранения навыка у животных, получавших препарат в дозе 10,0 мкг/кг.

Таким образом, Ac-D-SPRG был более эффективен по сравнению с исходным фрагментом при введении за 5 минут до исследования. При введении препаратов за 15 и 30 минут до тестирования их эффективность была сопоставима, однако направлена на разные компоненты обучения. АВП(6-9) в большей степени способствовал ускорению формирования памятного следа, в то время как аналог - его сохранению.

Работа поддержана РФФИ (проект № 15-04-05104а).

ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ АГРЕГАТОВ ТАЙТИНА СЕРДЕЧНОЙ СКЕЛЕТНЫХ И ГЛАДКИХ МЫШЦ

Юршенас Д.А., Бобылёв А.Г., Подлубная З.А.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

bobylev1982@gmail.com

Амилоидные отложения, образующиеся в органах и тканях в результате наследственного или приобретенного нарушения сворачивания белков, играют центральную роль в патогенезе амилоидозов. Известно более 50 белков, образующих амилоидные фибриллы, связанные с амилоидозами, в том числе и мышечными, таких как тау-белок, хантингтин, амилин, Абетапептиды, альфа-синуклеин, инсулин, лизоцим, миоглобин, транстиретин и др. Амилоидные агрегаты имеют ряд специфических тинкториальных и физико-химических характеристик: способность связываться с красителями Конго красным и тиофлавином Т, высокое содержание β -складчатости во вторичной структуре, двойное лучепреломление в поляризованном свете, нерастворимость в большинстве растворителей и устойчивость к протеазам.

С помощью электронной микроскопии нами обнаружена способность гладкомышечного тайтина (м.м. 0,5 и 1,5 мДа), тайтина из сердечной мышцы (м.м. 2000 кДа), а также тайтина скелетных мышц (м.м. 2000 кДа) формировать *in vitro* аморфные агрегаты и пучки фибрилл. С помощью флуоресцентного анализа было показано, что агрегаты исследуемых белков способны связываться с красителем тиофлавином Т, увеличивая его интенсивность флуоресценции. Это свидетельствует об амилоидной природе этих агрегатов. Спектрофотометрическим методом была показана способность тайтина связываться красителем Конго красным, с характерным для амилоидов сдвигом спектра поглощения красителя в длинноволновую область. Таким образом, можно заключить, что тайтин гладких, скелетных и сердечной мышц формирует *in vitro* амилоидоподобные агрегаты.

При изучении вторичной структуры тайтина гладких мышц методом кругового дихроизма было показано отсутствие α -спиральных участков. Во вторичной структуре тайтина поперечно-полосатых мышц содержание α -спиральных участков составляло 10%. Так как основное свойство амилоидных фибрилл – это β -складчатая структура, можно предположить, что гладкомышечный тайтин более склонен к амилоидной агрегации, чем тайтин поперечно-полосатых мышц. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00283.

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ИОННЫХ КАНАЛОВ В СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА

Васильева В.Ю.^{1,2}, Васильева И.О.¹, Чубинский-Надеждин В.И.¹

¹ФГБУН Институт цитологии РАН, ²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский
политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

vasileva.valeriia@gmail.com

Одним из перспективных источников стволовых клеток (СК) являются стволовые клетки эндометрия (СКЭ), которые могут быть получены неинвазивным и доступным методом выделения.

Ионные каналы играют важную роль в процессах жизнедеятельности клеток. Вероятно, ионные каналы могут участвовать в процессах дифференцировки некоторых СК в специализированные типы клеток. При этом данные о функционировании ионных каналов в СКЭ отсутствуют. Цель данной работы – идентифицировать ионные каналы в СКЭ на уровне одиночных токов и выявить особенности их функционирования. Основной подход – метод локальной фиксации потенциала (патч-кламп) при регистрации токов от участка нативной клетки (cell-attached) и мембранного фрагмента (inside-out).

В патч-кламп опытах была обнаружена активация механочувствительных каналов (МЧК) в ответ на натяжение клеточной мембраны. Проводимость одиночного канала и особенности активации токов позволили сделать предположение об их принадлежности к семейству Piezo. С помощью метода ОТ-ПЦР анализа была показана экспрессия генов PIEZO 1 и PIEZO 2. В 50-60% опытов активация МЧК сопровождалась активностью калиевых каналов с проводимостью

84.9±5.4 пСм. Было предположено, что активность калиевых каналов стимулируется локальным входом кальция в клетку через кальций-проводящие МЧК. В конфигурации inside-out было показано, что увеличение концентрации внутриклеточного кальция с 10^{-7} до 10^{-6} М активирует калиевые токи. Кроме того, калиевые каналы активируются в ответ на увеличение мембранного потенциала, т.е. являются потенциал-зависимыми. Эти свойства характерны для кальций-зависимых калиевых каналов $K_{Ca1.1}$. Также была обнаружена активность калиевых каналов с проводимостью $10.4±1.4$ пСм, которая не зависела от активации МЧК. Выявлено, что эти каналы также являются кальций-зависимыми и активируются при повышении уровня внутриклеточного кальция от 10^{-8} до 10^{-7} М. Характеристики данных каналов позволили отнести их к семейству кальций-активируемых каналов малой проводимости ($K_{Ca2.x}$ или SK). На уровне мРНК была подтверждена экспрессия генов $KCNMA1$ ($K_{Ca1.1}$) и $KCNN2$ ($K_{Ca2.2}$) в СКЭ.

Таким образом, в мембране СКЭ функционируют кальций-активируемые калиевые каналы ($K_{Ca1.1}$ и $K_{Ca2.2}$) с различной проводимостью и чувствительностью к уровню кальция в клетке. При этом каналы $K_{Ca1.1}$ сопряжены с механозависимым входом кальция через кальций-проводящие МЧК, вероятно относящиеся к семейству Piezo.

АНАЛИЗ НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ УМЕРЕННОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЕЙ ПРИ КОМПЕНСАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОКСИИ МОЗГА

Ветровой О.В.^{1,2}, Рыбникова Е.А.¹, Тюлькова Е.И.¹

¹ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, ²ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

vov210292@yandex.ru

Исследование посвящено оценке эффективности нейропротективного действия посткондиционирования умеренной гипобарической гипоксией (ПостК), направленного на компенсацию последствий тяжелой гипобарической гипоксии (ТГ).

Цели работы: сравнение влияния ТГ с последующим трехкратным ПостК и без него на динамику количества конечных продуктов перекисного окисления липидов (тиобарбитуровая кислота активных продуктов и оснований Шиффа) и интенсивность апоптотических процессов в гиппокампе и неокортексе крыс. Кандидатом на роль ключевого фактора обеспечения нормального функционирования организма в условиях гипоксии и защиты клеток от последствий реоксигенации является гипоксия индуцибельный фактор 1 (HIF1). Поэтому также было интересно оценить, как в исследуемых моделях в мозге крыс меняется количество регуляторной альфа субъединицы этого транскрипционного фактора и протективного цитокина эритропоэтина (Еро), маркера транскрипционной активности HIF1. Кроме того, была поставлена задача оценить модификацию экспрессии нейротрофина BDNF и противоапоптотического белка Bcl-2 в чувствительных к гипоксии образованиях мозга крыс, переживших ТГ и ТГ+3ПостК.

Иммуногистохимически и методом вестерн блоттинг показано снижение количества HIF1 α , Еро, BDNF и Bcl-2 в поле CA1 и зубчатой извилине гиппокампа, 2м и 5м слоях сенсо-моторной коры крыс, переживших ТГ. ПостК приводит к выраженной ап-регуляции экспрессии изучаемых белков, предотвращению вызванной ТГ фрагментации ДНК, а также нормализации процессов свободнорадикального окисления липидов и утилизации белков, поврежденных продуктами перекисного окисления.

Работа поддержана грантами РФФИ (№13-04-00532) и КНВШ (ПСП№14084).

БЫСТРЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ ПРИ 24-ЧАСОВОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКЕ В M.SOLEUS КРЫСЫ

Вильчинская Н.А., Ломоносова Ю.Н., Шенкман Б.С.

ФГБУН ГНЦ РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Vilchinskaya2008@rambler.ru

Пусковые механизмы развития атрофического паттерна сигнальных событий в скелетных мышцах млекопитающих при гравитационной разгрузке практически не изучены. Ранее в работах нашей лаборатории были получены данные о состоянии внутриклеточных сигнальных путей *m. soleus* человека после 3-суточной "сухой" иммерсии. Исследования биоптатов *m. soleus* человека в условиях кратковременной гравитационной разгрузки показывают значительное снижение уровня фосфорилирования АМФ-активируемой протеинкиназы (АМРК) и нейрональной NO-синтазы (nNOS), что сопровождается активацией протеолитических процессов. Эти данные вместе с данными о снижении содержания оксида азота(II) в мышце в первые 24 часа гравитационной разгрузки у крыс позволяют сформулировать гипотезу о резком снижении интенсивности работы защитных NO-зависимых механизмов в постуральной мышце уже в начальный период опорной разгрузки.

Основная цель работы состояла в изучении кратковременного влияния микрогравитации на сигнальные молекулы, вовлеченные в регуляцию процессов синтеза и распада белка. Проводилось 24-часовое антиортостатическое вывешивание задних конечностей крыс по методике Ильина-Новикова в модификации Морей-Холтон. Содержание pАМРК(Thr172), pNOS(Ser1417)/nNOS, p70S6K/p70S6K(Thr389) определяли методом гель-электрофореза с последующим иммуоблоттингом.

После 24-часового вывешивания наблюдалось снижение содержания фосфорилированной АМРК(Thr172) на 63% относительно контрольной группы. В результате вывешивания также отмечалось достоверное увеличение содержания фосфорилированной p70S6K на 69% относительно группы контроля, а также наблюдалось увеличение содержания тотальной p70S6K на 40%. Наблюдалось незначительное снижение содержания тотальной NO-синтазы на 10% относительно контрольной группы, а уровень фосфорилированной NO-синтазы не отличался от группы контроля.

Таким образом, нами был подтвержден феномен снижения уровня фосфорилирования АМФ-активируемой протеинкиназы на раннем этапе гравитационной разгрузки, ранее обнаруженный нами в эксперименте с участием человека. В то же время, это снижение не сказывалось на уровне фосфорилирования нейрональной NO-синтазы. Поэтому, ранее зарегистрированное нами снижение содержания NO при 24-часовом вывешивании можно считать следствием работы иных механизмов.

Работа поддержана грантом РФФИ 13-04-00888 А.

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ РЕСПИРАТОРНОГО ЭПИТЕЛИЯ ТРАХЕИ КРЫСЫ

Волкова А.Г.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

agvolkova33@gmail.com

Исследование посвящено неопisanному ранее механизму регенерации эпителия верхних дыхательных путей крысы. Респираторный эпителий трахеи представлен несколькими типами клеток: реснитчатыми, секреторными, базальными. Последние имеют плоскую форму и плотно прилегают к базальной мембране. Базальные клетки способны дифференцироваться, образуя новые реснитчатые и секреторные клетки. При ингаляционной травме происходит массовая гибель всех клеток респираторного эпителия, кроме базальных - в силу их расположения. Затем происходит дифференцировка базальных клеток и рождение новых реснитчатых и секреторных, респираторный эпителий восстанавливается. Этот механизм на данный момент достаточно хорошо изучен и описан.

В ходе исследования терапевтического эффекта, оказываемого ферментами-антиоксидантами и паракринными факторами мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на

эпителий трахеи после химического ожога, мы обнаружили второй способ регенерации эпителия. В толще подслизистого слоя трахеи крысы на первые сутки после ожога и применения указанных препаратов возникают замкнутые структуры, морфологически идентичные респираторному эпителию. Иммуногистохимический анализ подтвердил эпителиальную природу этих структур: в них были выявлены реснитчатые клетки (при окраске антителами к тубулину).

Количество замкнутых эпителиальных структур в подслизистом слое трахеи достигает максимума на третий и четвёртый дни после ожога, затем идёт на убыль. В работе показано, что, приблизившись к базальной мембране, замкнутые структуры встраиваются в неё, образуя новый участок респираторного эпителия и тем самым восстанавливая повреждённую при ожоге ткань.

Происхождение эпителиальных структур в подслизистом слое трахеи мы объясняем присутствием там клеток Клара, которые способны к дифференцировке. Использование паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток стимулирует пролиферацию клеток Клара, а затем их дифференцировку, так как в паракринных факторах МСК содержатся факторы роста и интерлейкин 6.

Исследование проводилось на модели химического ожога, для получения которого крыса на несколько минут помещалась в атмосферу насыщенных паров соляной кислоты.

ГРУППОВОЕ СОДЕРЖАНИЕ ПРИВОДИТ К ПОДАВЛЕНИЮ ПОЛОВОЙ И ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ САМЦОВ, НО НЕ САМОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Гончарова А.А.

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

AnemoneNemorosa@yandex.ru

Социальные контакты способны оказывать сильное влияние на поведение животных. Для самцов дрозофилы показано, что длительное содержание в гомогенных группах приводит к угнетению агрессивного и полового поведения. У самок зафиксированы изменения поведения при нахождении в группе с другими самками, однако последствия такого содержания обнаружены не были. Механизмы, за счет которых происходит описанная модуляция поведения после содержания в однополых группах, еще не найдены.

В работе были использованы самцы и самки *D. melanogaster* линии дикого типа Canton-S. Экспериментальных мух содержали в течение 3 суток после вылупления либо поодиночке, либо в группе из 20 особей одного пола. Двигательную активность тестировали в одиночных камерах, половое поведение и звукопродукцию самцов – при участии оплодотворенных 3-суточных самок, латентное время до начала копуляции самок – при участии 3-суточных самцов.

Было показано, что содержание самцов дрозофилы в группе приводит к сильному подавлению их двигательной активности, интенсивности ухаживания и звукопродукции. В то же время на поведение самок не оказывали влияние условия их предшествующего содержания: показатели двигательной активности после группового и одиночного содержания не отличались друг от друга, и соответствовали показателям самцов, содержавшихся поодиночке, латентное время до начала копуляции в обеих группах также было одинаковым.

Таким образом, на содержание в группе в течение 3 суток после вылупления самцы дрозофилы реагируют снижением половой и двигательной активности, у самок соответствующие изменения не наблюдаются. Мы предполагаем, что при содержании в группе у самцов, вследствие их большей агрессивности и демонстрации гомосексуального поведения, может происходить обучение, результатом чего является избегание ими контактов с другими мухами (что препятствует запуску ритуала ухаживания) и нахождение большей части времени в покое (что снижает вероятность столкновений с другими мухами). С другой стороны, причиной также может являться разница в системах стрессоустойчивости (которая более совершенна у самок). Т.к. неподвижность не защищает от столкновений с мухами, совершающими побегу, например, в поисках пищи, то возникает ситуация, когда ни одна

стратегия поведения не приводит к желаемому результату. Последнее может являться причиной развития хронического стресса и состояния, подобного выученной беспомощности.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-02153.

ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АДРЕНОЦЕПТИВНЫХ СТРУКТУР ФАСТИГИАЛЬНОГО ЯДРА МОЗЖЕЧКА НА ПЕРЕДАЧУ ЕГО МОДУЛИРУЮЩИХ ВЛИЯНИЙ НА ДЫХАНИЕ

Гончарова В.С.

ФГБОУ ВПО Самарский государственный университет, Самара, Россия

rigly92@mail.ru

В настоящее время в физиологии проводятся исследования влияния различных нейротрансмиттеров на передачу респираторных воздействий от центральных ядер мозжечка. В данной работе изучается зависимость респираторных влияний фастигиального ядра (ФЯ) мозжечка от активности его норадреночувствительных структур. Норадреналин как нейромедиатор включен в регуляцию множества различных функций ЦНС. Нейроны, содержащие норадреналин, в основном сосредоточены в голубом пятне (*locus coeruleus*); а также обнаружены в ретикулярной формации моста, на вентральной поверхности продолговатого мозга, на уровне латерального ретикулярного ядра в каудальной части IV желудочка и ростральнее данного участка мозга. Норадренергические нейроны формируют широкую систему восходящих и нисходящих проекций. Отдельный тракт связывает нейроны голубого пятна с мозжечком и, в частности, с его ФЯ.

Исходя из вышеуказанных данных, в нашем исследовании проводились острые эксперименты на 6 нелинейных крысах массой 260-320 грамм, наркотизированных уретаном (1,5 г/кг; внутривенно; Sigma). Были изучены изменения частотно-временных и объемных параметров дыхания и показателей электрической активности инспираторных мышц при микроинъекции норадреналина гидрохлорида (10^{-3} М; 0,2 мкл) в ФЯ мозжечка. Методика проведения острых экспериментов в данном исследовании соответствует Правилам лабораторной практики в РФ и директивам Европейской Конвенции по защите позвоночных животных. Приведенные результаты исследования статистически и графически обработаны в программе SigmaStat.

В данном исследовании в результате активации норадреночувствительных структур ФЯ мозжечка было обнаружено усиление внешнего дыхания преимущественно за счет роста объемной составляющей дыхательного паттерна (дыхательного объема, минутного объема дыхания) и увеличения продолжительности дыхательного цикла на фоне некоторого снижения частоты дыхания. Изменения дыхательного паттерна подтверждаются соответствующим возрастанием активности инспираторных мышц за счет увеличения амплитуды максимальной осцилляции в залпе, времени залпа и межзалпового интервала.

В нашей работе рассматриваются возможные рецепторные механизмы проявления полученных в ходе экспериментов респираторных реакций. Также обсуждается общее значение норадреночувствительных структур мозжечка в регуляции деятельности дыхательного центра.

ДЫХАНИЕ, ТРАНСПОРТ ИОНОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ ОБМЕН В МИТОХОНДРИЯХ МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Горбачёва О.С.¹, Белослудцева Н.В.¹, Шигаева М.И.², Миронова Г.Д.²

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

helga111@mail.ru

Нарушение калиевого гомеостаза клетки является одним из патогенных моментов в возникновении судорог при эпилепсии. Известно, что это заболевание характеризуется снижением мембранного потенциала клетки и увеличением внеклеточной концентрации ионов

калия. При увеличении внеклеточного уровня ионов калия с 2 до 9 мМ мембранный потенциал клетки снижается с -63 мВ до -52 мВ, и такая деполяризация приводит к появлению судорог. Механизм возникновения эпилептиформных судорог пока не ясен. Задача изучения энергетического и ионного обмена в тканях при эпилепсии является весьма актуальной.

В работе были использованы 3 группы животных: 1 - крысы линии Крушинского-Молодкиной (КМ), которые в высокой степени предрасположены к судорожным припадкам в ответ на звук; 2 - крысы КМ, которые за 2 дня до эксперимента были подвергнуты акустическому стрессу; 3 - контрольные крысы, которые не предрасположены к аудиогенной эпилепсии. У этих животных были изучены параметры функционирования митохондрий печени и мозга крыс: скорость дыхания и интенсивность окислительного фосфорилирования, скорость транспорта ионов K^+ , количество калия и Ca^{2+} емкость.

На митохондриях мозга крыс КМ было установлено ингибирование всех скоростей дыхания на сукцинате в среднем на 20-25% (по сравнению с контролем). Достоверных изменений энергетического обмена у крыс КМ животных по сравнению с контролем не наблюдается. Изменений при использовании субстратов – глутамат/малат (при работе первого участка дыхательной цепи) в митохондриях мозга не обнаружено. Следовательно, изменения дыхания митохондрий мозга крыс КМ наблюдаются только при работе 2 и 3 участка дыхательной цепи и только после предварительного действия на них звука. В митохондриях печени вышеописанные изменения наблюдаются на обоих субстратах дыхания как у крыс КМ без действия звука, так и у крыс КМ, подвергнутых акустическому стрессу.

Скорости входа ионов калия в митохондрии мозга и печени обеих групп крыс КМ также снижены по сравнению с контрольными животными (в среднем на 20-30%), в то время как количество в них калия снижено незначительно. Количество аккумулированного кальция, определяемое как митохондриальная Ca^{2+} емкость, снижается в митохондриях как мозга, так и печени крыс КМ при озвучивании, что говорит об увеличении у этих животных вероятности открытия Ca^{2+} -зависимой циклоспорин А (ЦСА)-чувствительной поры, тогда как изменений параметров функционирования пальмитат-индуцируемой липидной поры у этих животных не наблюдается.

ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА VI ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ/РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

Гордеева А.Е., Шарапов М.Г., Темнов А.А., Новоселов В.И.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

gordeeva1310@yandex.ru

В настоящий момент пероксиредоксин VI (Ptx VI) представляет интерес исследователей в качестве потенциального лекарственного препарата антиоксидантного действия, который может найти применение в терапии заболеваний, патогенез которых связан с окислительным стрессом. Окислительный стресс играет основную роль в повреждении клеток при ишемически/реперфузионном поражении (И/РП) органов. Кишечник, вследствие его высокой потребности в кислороде, весьма чувствительный к И/РП, в основе повреждающего механизма которого лежит цепь реакций приводящих к генерированию токсичных активных форм кислорода.

В представленной работе исследовался протекторный эффект экзогенного фермента-антиоксиданта Ptx VI в условиях И/РП тонкого кишечника крысы. Серии экспериментов заключались в моделировании 60-минутной ишемии кишечника путем легирования верхней брыжеечной артерии на уровне отхождения от аорты, с последующей реперфузией.

В ходе исследования было обнаружено, что при И/Р повреждении тонкого кишечника увеличивается экспрессия генов ферментов антиоксидантов, что свидетельствует о борьбе организма с окислительным стрессом; применение экзогенного Ptx VI существенно нормализует ситуацию с окислительным стрессом, о чем свидетельствует снижение активности генов представленных ферментов. И/Р поражение приводит к патологическим изменениям в кишечной стенке на клеточном уровне, что отражается в разрушении и массивной десквамации эпителиальных клеток ворсинок и крипт. Пероксиредоксин VI, введенный внутривенно до И/Р

повреждения, ослабляет степень реперфузионного поражения. Общая физиологичная архитектура кишечной стенки сохранена.

Применение экзогенного пероксиредоксина VI позволяет нормализовать антиоксидантный статус и уменьшить повреждение клеток при ишемически/реперфузионном поражении.

Работа поддержана грантами РФФИ 13-04-00537, РФФИ 13-04-00763 и Грантом Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

РЕНТГЕНОВСКАЯ ТОМОГРАФИЯ ПОЛИМЕРНЫХ 3-Д СКЭФФОЛДОВ ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ

Городжа С.Н., Сурменев Р.А.

ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия

sveta_gorodzha@mail.ru

Основной задачей регенеративной медицины является лечение заболеваний костных тканей. С этой задачей способны справиться искусственные 3-Д матрицы, имитирующих внеклеточный каркас, способный индуцировать остеогенез.

Эффективным способом решения данной задачи является применение в качестве 3-Д скаффолдов волокнистых материалов, полученных методом электроформования [1]. Создание материалов данного типа на основе биосовместимых натуральных и синтетических полимеров делают возможным их использование в инженерии костной ткани.

Для исследования и анализа конструкции полимерных скаффолдов используются двухмерные методы визуализации, такие как оптическая и электронная микроскопия, позволяющие получить информацию о поверхности исследуемого объекта. Однако одним из критических факторов успешной работы 3-Д матрикса является характеристика его внутренней структуры в полном объеме. В связи с этим, целью данной работы является изучение внутренней структуры матриксов на основе PCL/PHB-HV композита, образованных методом электроформования методом рентгеновской томографии.

В данном исследовании были взяты полимерные гибридные матриксы (ПМ) из натурального полигидроксibuтират с гидроксивалератом (PHB-HV) и синтетического биосовместимого поликапролактона (PCL) в следующем соотношении: ПМ1 – PCL (9%) и PHB-HV (13%) в соотношении 50:50, ПМ2 – PCL (9%) и PHB-HV (13%) в соотношении 80:20. В качестве эталона также были взяты образцы с содержанием чистого полимера PCL (9%) – ПМ3 и PHB-HV (13%) – ПМ4.

Основываясь на результатах, полученных с данных томограмм, можно сделать вывод о том, что образцы ПМ2 и ПМ3 имеют схожую структура, по сравнению с другими типами образцов. В середине образца структура более плотная и диспергирует по направлению к краям. Образцы ПМ1 и ПМ4 обладают гомогенной структурой. Основной причиной неравномерности структуры может послужить влияние параметров вязкости материалов, а также параметры, определяющие процесс электроформования (напряжение, скорость подачи полимера, расстояние между иглой и коллектором) [2].

Список литературы:

Lu W., Sun J., Jiang X. Recent advances in electrospinning technology and biomedical applications of electrospun fibers // J. Mater. Chem. B. The Royal Society of Chemistry, 2014. Vol. 2, № 17. P. 2369.

Beachley V., Wen X. Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 2009. Vol. 29, № 3. P. 663–668.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ СОСТОЯНИЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ МЕТОДОМ КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

Губарькова Е.В., Дуденкова В.В., Тимофеева Л.Б., Киселева Е.Б., Гладкова Н.Д.
ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России,
Нижний Новгород, Россия

kgybarkova@mail.ru

Развитие высокоразрешающих технологий открыло новые возможности для изучения изменений пространственной организации клеток и межклеточного матрикса тканей в ходе воспаления. Воспаление, наблюдающееся при атеросклерозе, приводит к дезорганизации коллагеновых волокон, меняющей поляризацию света при прохождении через ткань, что может быть полезно для характеристики атеросклеротической бляшки. В данной работе проиллюстрирована возможность метода кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (КП ОКТ) оценивать состояние коллагеновых волокон атеросклеротической бляшки *ex vivo* на разных стадиях атеросклероза по относительным характеристикам яркости ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации. Данные КП ОКТ сравниваются с данными нелинейной микроскопии в режимах генерации второй гармоники (ГВГ) и двухфотонного возбуждения флуоресценции, позволяющей избирательно контролировать структурные изменения коллагеновых и эластиновых волокон. В качестве контрольного метода служили гистологические окраски: Ван-Гизон и орсеин для исследования этих типов волокон. В исследовании использованы 14 *post mortem* образцов коронарных сосудов пациентов, умерших от сердечно-сосудистых заболеваний с бляшками, находящимися в различных стадиях атеросклероза. Всего исследовано 30 областей интереса, на которых обнаружены и гистологически подтверждены все стадии развития атеросклеротических бляшек.

Установлено, что КП ОКТ по ОКТ-сигналу в ортогональной поляризации позволяет с хорошим контрастом и высоким разрешением изучать состояние коллагеновых волокон и структуру патологически измененной стенки коронарных артерий в ходе развития атеросклеротической бляшки. Показано, что данные, полученные с помощью нелинейной микроскопии, характеризующие клеточный и волоконный компоненты тканей по флуоресцентным характеристикам и свойствам ГВГ, хорошо коррелируют с результатами КП ОКТ. Комплексное изучение состояния коллагеновых волокон данными методами, процессов их деградации или фиброобразования в процессе развития атеросклеротической бляшки может добавить новую информацию в определении стадии атеросклероза, своевременного выявления нестабильных бляшек для предотвращения их разрыва. Мы используем это сравнение для доказательства возможности прижизненной визуализации состояния коллагеновых волокон стенки сосудов методом КП ОКТ в качестве быстрого и неразрушающего метода.

ВЛИЯНИЕ ИЗОЛЯЦИИ ОТ МАТЕРИ В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЗРОСЛЫХ САМЦОВ КРЫС, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ТЕМПОМ СТАРЕНИЯ

Долодоев А.С.

ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, ФГБНУ Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

dolodoev@mail.ru

Изучение механизмов нарушений функций организма вследствие возрастной инволюции, стрессорных воздействий и взаимодействия этих факторов является актуальной задачей биологии и медицины. Крысы линии OXYS представляются перспективной моделью для изучения взаимодействия ранних стрессовых воздействий и развития генетически обусловленных нарушений, характерных для старения. Целью работы было изучение влияния отделения от матери в раннем возрасте на поведенческие, гормональные характеристики и

нейроморфологические показатели у 4-месячных самцов крыс с нормальным (линия Вистар) и ускоренным (линия OXYS) темпом старения.

Самцы крыс обеих линий были подвергнуты процедуре отделения от матери (MS) в период с 1 по 21 день жизни на 15 или 180 минут ежедневно. В зрелом возрасте у них не выявлено изменений показателей общей двигательной и исследовательской активности в тесте «открытое поле». А в тесте распознавания нового предмета у крыс Вистар, но не OXYS, подвергшихся MS, показатели рабочей памяти достоверно снижались. Базальный уровень кортикостерона у крыс линии Вистар после MS достоверно не отличался от таковой у крыс контрольной группы, а у крыс линии OXYS после MS наблюдалось достоверное повышение этого показателя. У крыс Вистар, подвергнутых MS, обнаружено выраженное снижение половой мотивации, но не у самцов OXYS, которые характеризуются низкой выраженностью половой мотивации и в обычных условиях. Также было оценено влияние MS на плотность нейронов в области фронтальной коры и в областях CA1 и CA3 гиппокампа.

Таким образом, впервые показано влияние изоляции от матери в ранний постнатальный период на проявление половой мотивации самцов крыс. Выявлены особенности эффектов MS, связанные с генетически обусловленным ускоренным темпом старения.

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В НИСХОДЯЩЕЙ ОБОДОЧНОЙ КИШКЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ЦИТОСТАТИКА ПРОИЗВОДНОГО МАЛЕИМИДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ

Ена М.С.

Киевский национальный университет им. Т. Шевченко НАН Украины, Киев, Украина

yenamaryna.7@gmail.com

Ингибитор тирозинкиназ 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1H-пиррол-2,5-дион (МИ-1) обладает противоопухолевой активностью, а также имеет противовоспалительные свойства. Поэтому исследование влияния данного соединения при язвенном колите является актуальным.

Цель работы - влияния МИ-1 на состояние слизистой оболочки толстой кишки крыс разных полов в условиях экспериментального колита.

Исследования проводили на крысах обоих полов. Язвенный колит индуцировали 2-кратным ректальным введением 1 мл 4% уксусной кислоты еженедельно. МИ-1 (2,7 мг/кг) вводили в масляном растворе *per os* ежедневно в течение 2 недель. Оценивали состояние слизистой оболочки нисходящей ободочной кишки макроскопически по 10-балльной шкале, степень воспалительного процесса оценивали по 11-балльной шкале на светооптическом уровне. У крыс обоих полов при колите наблюдали утолщение и раздражение стенки кишки, ороговения и спайки между петлями кишки, диффузную десквамацию поверхностного эпителия слизистой оболочки, отек и лимфо-инфильтрацию собственной пластинки, выраженную гиперемию, кровоизлияния и кровостазы. При этом у самцов, в отличие от самок, воспаление, отек, расширение кровеносных капилляров и иногда кровоизлияния также имели место в серозном слое, у самок же наблюдался спазм мышечной оболочки толстой кишки. Степень повреждения кишки у самцов соответствует 6 баллам, интенсивность воспалительного процесса - 5 баллам (=11); у самок повреждения кишки - 6 баллам, интенсивность воспалительного процесса - 8 баллам (=14). В условиях действия МИ-1 на фоне колита у крыс обоих полов исчезала десквамация поверхностного эпителия, но сохранялись скопления лимфоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки, а также некоторые нарушения сосудистого русла: эритростаз, незначительные диапедезные кровоизлияния у самцов, расширение и переполнение кровью капилляров и мелких вен и артерий подслизистого слоя у самок. У самцов кишка повреждений не имела (0 баллов), интенсивность воспалительного процесса - 1 балл (=1); у самок повреждения кишки - 3 баллам, интенсивность воспалительного процесса - 3 баллам (=6). Таким образом, МИ-1 в условиях экспериментального колита более эффективен по отношению к самцам, чем самкам, что указывает как на предрасположенность самок к воспалительным заболеваниям кишечника, так и меньшую их чувствительность к терапии противовоспалительными средствами. В целом МИ-1 в условиях колита подавляет

воспалительный процесс, способствует сохранению целостности поверхностного эпителия и является перспективным средством для терапии воспалительных заболеваний кишечника.

ВОЗДЕЙСТВИЕ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО СВЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ 470 НМ, 525 НМ И 635 НМ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЛАНАРИЙ

Ермаков А.М., Скавуляк А.Н., Манохин А.А., Храмов Р.Н.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

ao_ermakovy@rambler.ru

Монохроматическое излучение различных длин волн как видимых, так и УФ и ИК в настоящее время широко используется для физиотерапевтических целей в медицине. Несмотря на то, что подобный феномен исследуется уже много десятилетий, механизмы биологической активности подобного рода излучений изучены крайне слабо. Планарии являются классическим объектом для исследований в области регенерации и морфогенеза и эти процессы у них очень чувствительны к воздействию различных слабых и сверхслабых физических и химических факторов. Целью данной работы являлось исследование воздействия монохроматического светового излучения (СИ) 470 нм, 525 нм и 635 нм на регенерацию и пролиферацию стволовых клеток планарий *Schmidtea mediterranea*. В качестве источников излучения использовали светодиодные матрицы.

Нами было обнаружено, что воздействие на регенерирующих планарий СИ 470 нм при различной экспозиции (от 5 до 40 мин) не приводило к изменению скорости регенерации головной части. Тогда как воздействие с длинной волны 525 нм уже при 15 мин экспозиции приводило к достоверному ингибированию регенерации, а при 25 мин величина эффекта составляла 25%. Также при данном режиме наблюдали достоверное подавление пролиферации стволовых клеток.

Облучение планарий СИ с длинной волны 635 нм приводило к достоверному стимулированию скорости роста головной бластемы. После 15 мин воздействия величина эффекта составляла 21% и достигала максимума при 22,5 мин (29%). Увеличение продолжительности облучения до 30 мин полностью снимало стимулирующий эффект. В точке максимальной биологической активности данного СИ мы наблюдали также изменение динамики пролиферативной активности стволовых клеток, видимо связанной с изменениями в продолжительности клеточного цикла необластов.

Дальнейшие исследования эффектов воздействия СИ на примере регенерирующих планарий позволит выявить клеточные и молекулярные механизмы этих явлений. Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-04-31518 мол-а и 14-44-03672 р_центр_а.

ПРОТИВОЛЕЙКЕМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАЗАХСТАНА

Жаманбаева Г.Т.¹, Мурзахметова М.К.², Тулеуханов С.Т.¹, Даниленко М.³

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, ²РГП Институт физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Казахстан; ³Университет им. Бен-Гуриона, Беэр-Шева, Израиль

gulzhan_t.82@mail.ru

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) является наиболее распространенным острым лейкозом, поражающим взрослых людей, и его частота увеличивается с возрастом. Хотя ОМЛ - относительно редкое заболевание, оно характеризуется исключительно высокой смертностью. Лечение ОМЛ традиционной химиотерапией в большинстве случаев является неэффективным и сопровождается тяжелыми побочными эффектами. Поэтому разработка более эффективных и менее токсичных препаратов для ОМЛ является неотложной и важной проблемой общественного здоровья. Выявление растительных веществ с противолейкемическими

свойствами будет способствовать развитию более эффективных и менее токсичных подходов к лечению ОМЛ.

В настоящей работе определялись противолейкемические эффекты водно-спиртовых экстрактов листьев облепихи (*Hippophae rhamnoides*), шиповника (*Rosa canina*), шалфея (*Salvia officinalis*) и травы душицы (*Origanum vulgare*), собранных Заилийского Алатау (Казахстан), на миелобластные (HL60) и миеломоноцитарные (U937) клетки ОМЛ человека *in vitro*. Исследованные экстракты, в зависимости от дозы и типа клеток, ингибировали клеточный рост и вызывали цитотоксическое действие. Наиболее примечателен тот факт, что при комбинировании экстрактов друг с другом наблюдалось существенное кооперативное усиление цитостатических эффектов, связанных с частичной остановкой клеточного цикла в фазе S. Важно отметить, что жизнеспособность нормальных мононуклеарных клеток периферической крови человека существенно не изменялась при добавлении этих комбинаций. Кроме того, экстракты в различной степени усиливали дифференцировку клеток ОМЛ, индуцированную гормональной формой витамина Д - 1,25-дигидроксивитамином Д₃ - в дозах близких к физиологическим.

Результаты работы позволяют предположить, что усиленное противолейкемическое действие комбинаций исследованных экстрактов лекарственных растений могут быть использованы для развития альтернативных терапевтических и профилактических подходов в отношении ОМЛ.

ВАРИАбельНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У СОТРУДНИКОВ МЧС

Запатрина Е.Н.¹, Маевский Е.И.^{1,2}, Парамонова Е.В.³

¹Главное управление МЧС России по Московской области; ²ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ³ФГБУН Институт математических проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

elena070785@mail.ru

Одним из наиболее чувствительных способов оценки степени напряжения вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы (ВР ССС) человека является регистрация и анализ спектральных характеристик частоты сердечных сокращений - кардиоинтервалография (КИГ). Метод КИГ широко используется для определения профессиональной пригодности летного состава, моряков, космонавтов, операторов, диспетчеров и т.п., а также в практической медицине при оперативной функциональной диагностике состояния ВР ССС. Несмотря на 60-летний «стаж» применения КИГ, методики и интерпретация КИГ не стандартизованы, по-видимому, вследствие отсутствия содержательных концептуальных и математических моделей процессов, отражаемых в спектрах КИГ физиологических процессов. До настоящего времени оценка результатов КИГ основывается на множестве эмпирических корреляциях и опыте исследователей «защитом» в программы производителей аппаратуры для КИГ

Цель настоящего исследования заключалась в поиске приемлемой в амбулаторных условиях процедуры и алгоритма обработки КИГ при обследовании практически здоровых сотрудников МЧС с различным стажем работы для оценки степени напряженности и адекватности нагрузок на ВР ССС и оценке физиологических резервов организма.

Группы добровольцев включали сотрудников МЧС в возрасте 22, 33 и 43 лет. Обследование проводилось в дневное время суток, в положении лежа во время рабочей смены без выездов на происшествия.

Установлено, что для сотрудников МЧС в возрасте 22 лет характерно усиление выраженности самых низких по частоте волн – VLF (считается, что это характеристика психоэмоционального напряжения и высокой активности корково-лимбических структур), подавление низкочастотных волн - LF (вклад вазомоторного центра) и HF (дыхательного центра). В этой группе отмечена высокая неоднородность полученных показателей. При увеличении стажа работы в МЧС до 10 лет (группа со средним возрастом 33 года) выраженность VLF была намного выше нормы, а спектр HF еще более подавлен. У сотрудников МЧС в возрасте 43 лет со стажем работы до 15 лет показатели КИГ более стабильны и однородны, с характерным для физиологической «нормы» уровнем активности вазомоторного и дыхательного центров при умеренной интенсивности VLF волн. В этой

группы показатели КИГ можно охарактеризовать как свидетельство «нормального» адекватного для организма уровня нагрузок, наличия высоких регуляторных и энергетических резервов при малой выраженности напряжения ВР ССС.

О ПРОСТРАНСТВЕННОМ РАСПРОСТРАНЕНИИ СПОНТАННОЙ СИНХРОНИЗАЦИИ СПАЙКОВОЙ АКТИВНОСТИ В ПЛАНАРНЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЯХ С РЕЛАКСАЦИОННОЙ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТЬЮ

Зендриков Д.К.

ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия

zendrikov@phystech.edu

В планарных нейронных сетях, выращенных *in vitro* из первоначально диссоциированных нейронов, наблюдается спонтанная синхронизация спайковой активности нейронов в т.н. популяционные пачки, которые, как было показано экспериментально, распространяются по нейронной сети в виде бегущих волн, расходящиеся из нескольких случайных центров.

Наша работа обобщает результаты статьи, где популяционные пачки возникали в модельной нейронной сети с кратковременной синаптической пластичностью и биномиальным распределением межнейронных связей, на случай пространственно-зависимой топологии сети: вероятность образования односторонней связи между нейронами зависит от их взаимного расположения. В частности, показано, что популяционные пачки распространяются по планарной сети как бегущие волны, аналогично расходящимся круговым волнам на воде, возникающим в результате локального возмущения её поверхности, что качественно согласуется с экспериментальными результатами.

РОЛЬ КОРТИКОЛИБЕРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА КРЫС В РАЗВИТИИ ПОСТСТРЕССОВЫХ ТРЕВОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ И ИХ КОРРЕКЦИИ ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕМ

Зенько М.Ю., Рыбникова Е.А., Глущенко Т.С.

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

zenkomichail@mail.ru

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) – это одно из наиболее распространенных заболеваний тревожно-депрессивного спектра, возникающее в отдаленный период после сверхинтенсивных стрессорных воздействий. Оно характеризуется повышением тревожности и расстройством адаптивных реакций. Данное заболевание сопровождается нарушением работы гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС), ответственной за адекватный нейроэндокринный ответ на стресс. Главенствующим регулятором активности ГГАС является нейрого르몬 кортиколиберин (КЛ). Его рецепторы (КЛ-Р), локализованные в экстрагипоталамических структурах мозга, в частности гиппокампе и неокортексе, участвуют в ингибиторном контроле активности данной системы по принципу отрицательной обратной связи. В связи с необходимостью раскрытия роли центральных механизмов регуляции ГГАС в патогенезе ПТСР целью данной работы являлось изучение участия экстрагипоталамической КЛ-ергической системы в формировании и коррекции экспериментального ПТСР.

Ранее нами установлено, что эффективным способом коррекции ПТСР в моделях на крысах является гипоксическое посткондиционирование, обладающее выраженным анксиолитическим и адаптогенным эффектом. Методом количественной иммуногистохимии были исследованы изменения экспрессии КЛ и КЛ-Р в гиппокампе, фронто-париетальном и префронтальном неокортексе крыс при развитии у них тревожного состояния в модели ПТСР, а также после применения посткондиционирования гипобарической гипоксией (3 сеанса умеренной гипобарической гипоксии - 360 мм рт. ст., 2 ч). Установлено, что формирование

тревожной патологии сопровождается значительным снижением КЛ-иммунореактивности в исследованных структурах мозга, а также повышению уровня КЛ-Р в дорзальном (CA1) гиппокампе, фронто-париетальном и префронтальном неокортексе, что, возможно, связано с включением компенсаторных механизмов с целью up-регуляции подавленного КЛ-ергического тонуса. Гипоксическое посткондиционирование приводило к восстановлению иммунореактивности к КЛ и КЛ-Р до нормы.

Полученные данные свидетельствуют о вовлечении экстрагипоталамической КЛ-ергической системы в патогенез тревожных расстройств и в реализацию проадаптивного действия гипоксического посткондиционирования.

ОЦЕНКА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ ЖИВОТНЫХ К ПРОХОЖДЕНИЮ ВОДНОГО ЛАБИРИНТА МОРРИСА

Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

ivlieva@medphyslab.com

Для выявления воздействия различных биологически активных веществ, в том числе лекарств, на когнитивные функции мозга широко используют водный лабиринт Морриса. Однако есть данные о том, что индивидуальные особенности функционирования мозга у лабораторных животных, например, тревожность, заметно влияют на результаты данного теста. Задачей данного исследования была оценка разброса результатов в произвольно собранной группе животных.

Стандартная установка для данного теста - круглый бассейн, заполненный мутной водой. Туда помещена небольшая платформа, лежащая чуть ниже уровня воды. Мышь стремится выбраться из воды, и возможность сделать это – отыскать в бассейне платформу. Но платформа невидима в воде, поэтому мыши необходимо запомнить ее положение относительно ориентиров, расставленных вокруг бассейна. Исследователь замеряет время, затраченное животным на доплыв до платформы. Если платформа не найдена за отведенное время, мышь помещают на нее и дают посидеть и осмотреться. Эксперимент трехдневный, в день каждая мышь выполняет три заплыва по 3 минуты каждый с перерывами по 20-30 минут. Оценивалось среднее время каждой особи в день и степень его уменьшения по дням эксперимента.

По степени успешности прохождения теста Морриса вся совокупность особей может быть разделена на две группы: способные (47,4% выборки) и неспособные (52,6% выборки). Среднее время доплыва до платформы у способных мышей составляет около 1,5 минуты в начале теста и далее снижается по дням. Неспособные мыши добираются до платформы на третьей минуте, изменения по дням слабые. Для выборки всех особей значение дня как фактора достоверно ($p < 0,05$), в то время как для выборки способных особей – недостоверно ($p > 0,05$) (критерий Фридмана).

Таким образом, объединение этих групп в единую выборку приводит к усреднению значений и изменениям различий между днями эксперимента: согласно статистике результат значительно изменился при включении в анализ данных от неспособных особей. Вероятно, у неспособных мышей уровни отражаемых тестом функций мозга исходно слишком низки, поэтому эффект от воздействий на мозг не может быть выявлен в данной группе. Итого можно заключить, что перед началом экспериментов с применением водного лабиринта Морриса необходимо проводить предварительный отбор способных, обладающих необходимым для прохождения теста уровнем когнитивных способностей особей - во избежание сильных искажений в толковании результатов при выявлении эффектов от различных воздействий на функции мозга.

ВЛИЯНИЕ УМСТВЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА СТУДЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ВРЕМЕНИ

Ившин Д.В., Красникова И.В.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им.
Л.Н. Толстого, Тула, Россия

gvkrasnikov@gmail.com

Целью нашей работы была оценка влияния умственной нагрузки на показатели variability сердечного ритма (ВСР) студентов в условиях дефицита времени.

Анализ ВСР проводили методом вариационной пульсометрии по критериям Р.М. Баевского на основе регистрации электрокардиограммы. В исследовании приняли участие 25 девушек 18-22 лет. По исходному значению индекса напряжения (ИН) из них были сформированы 3 группы: ваготоники, нормотоники и симпатотоники.

Наше исследование показало, что выполнение арифметических действий как при отсутствии ограничения времени, так и при его дефиците вызывает достоверное изменение показателей ВСР. Характер реагирования на ментальное воздействие зависит от исходного тонууса отделов вегетативной нервной системы (ВНС).

Ваготоники характеризуются повышенным базовым парасимпатическим тонусом. Выполнение нагрузочного теста без ограничения времени приводит к повышению тонууса отделов ВНС. Ограничение во времени ведет к резкой дополнительной активации тонууса ВНС, особенно симпатического отдела. В этих условиях продуктивность работы увеличивается на 24%, но при этом в 2.3 раза увеличивается относительное количество ошибок, т.е. происходит увеличение скорости выполнения задания за счет потери качества. По-видимому, дефицит времени является дополнительным стрессовым фактором для ваготоников.

Значения показателей ВСР у нормотоников отражают сбалансированность механизмов, регулирующих сердечный ритм, в условиях относительного покоя. Выполнение нагрузочного теста без ограничения времени приводит к увеличению показателей ВСР, указывающих на активацию симпатического и парасимпатического отделов ВНС. У нормотоников отмечается максимальное количество сложенных пар. В условиях дефицита времени продуктивность выполнения задания увеличивается на 22%, при этом относительное количество ошибок не меняется. По-видимому, ограничение времени не является для нормотоников дополнительным фактором напряжения.

Симпатотоники характеризуются повышенным базовым симпатическим тонусом. При выполнении нагрузочного теста наблюдается его дополнительное увеличение, а парасимпатический тонус не меняется. При отсутствии ограничения времени у симпатотоников отмечается наименьшее количество сложенных пар при максимальном количестве ошибок. Однако дефицит времени приводит к наибольшему приросту продуктивности (на 38%) при значительном приросте относительного количества ошибок. Возможно, повышенный симпатический тонус и отсутствие увеличения уровня стресс-лимитирующего парасимпатического тонууса не позволяют этой группе студентов адекватно справляться с ментальной нагрузкой.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФРАКЦИОННОГО ЛАЗЕРНОГО ФОТОТЕРМОЛИЗА ДЛЯ ИНИЦИИРОВАНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА

**Карабут М.М.^{1,2}, Киселева Е.Б.¹, Фельдштейн Ф.И.³, Баскина О.С.¹, Снопина Л.Б.¹,
Гладкова Н.Д.¹**

¹ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, ²ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; ³Dental Photonics Inc.

maria.karabut@gmail.com

Стимуляция регенерации периодонтальных мягких тканей является важнейшей задачей терапии заболеваний слизистой оболочки полости рта. В данной работе для инициации регенерации десны и слизистой оболочки полости рта был использован минимально инвазивный микрохирургический метод фракционный лазерный фототермолиз (ФЛФ). Подобный вид лазерной обработки никогда не применялся по отношению к мягким тканям полости рта, в то время как десневая рецессия, пародонтит и гингивит – часто встречающиеся заболевания, представляющие реальную проблему для практикующих дантистов.

Эксперименты проводились на 18 здоровых кроликах. Животные прижизненно подвергались лазерной обработке, затем наблюдались в течение 90 суток. В работе использована оригинальная лазерная система компании «Dental Photonics Inc» на основе диодного лазера с длиной волны 980 нм, генерирующего излучение мощностью до 20 Вт. Каждая колонка создавалась при контакте наконечника диаметром 400 мкм с тканью десны при длительности экспозиции 80, 120 и 150 мс. Лазерные колонки наносились рядами на верхнюю челюсть кролика в области резцов. Для гистологической оценки использовались окраски нитросиним тетразолием, гематоксилином и эозином и пикросириусом красным. Наблюдение за разрушением и последующим восстановлением структуры ткани проводили прижизненно методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (КП ОКТ). Впервые применена модификация оригинального метода количественной оценки ОКТ сигнала в ортогональном КП ОКТ изображении по его среднеквадратичному отклонению (СО). Полученные данные указывают, что на 90 сутки структура ткани полностью восстановилась – признаков рубцевания в соединительной ткани не отмечалось. КП ОКТ может быть использован в качестве прижизненного метода контроля регенерации мягких тканей полости рта после ФЛФ. Эффективное заживление десны после ФЛФ может диагностироваться по наличию слоистой структуры слизистой оболочки в прямой поляризации и восстановлению значения СО ОКТ сигнала в ортогональной поляризации до исходного уровня. Таким образом, можно говорить о том, что однократная фракционная обработка индуцирует регенерацию слизистой оболочки полости рта, что позволяет рассматривать ФЛФ в качестве перспективного метода лечения заболеваний мягких тканей полости рта. Повторную фракционную обработку целесообразно проводить не раньше, чем через 1 неделю после первой процедуры, во избежание осложнений, связанных с неполным заживлением эпителия и соединительной ткани.

СОПОСТАВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА ЭЭГ И ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАЗВИТИЯ ОТДЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОЛЬНОГО ВНИМАНИЯ

Карпов Н.В.

ФГБОУ ВПО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

nikola-karpov@mail.ru

Рассмотрены особенности влияния функционального состояния коры и глубинных регуляторных систем (РС) разного уровня на развитие функции произвольного внимания. Проанализированы данные, полученные в результате обследования 24 детей с низким уровнем развития произвольного внимания в возрасте 7–10 лет, обучавшихся в общеобразовательной школе. Отбор детей осуществлялся с помощью комплекса методов, оценивающих уровень развития распределения внимания, объема внимания и поля зрения. Выполнение каждого

задания оценивалось специальной компьютерной программой по 5-балльной шкале. Уровень развития произвольного внимания определялся как среднее арифметическое.

Структурный анализ ЭЭГ позволил обнаружить у обследованных детей с низким уровнем развития внимания признаки несформированности механизмов коркового ритмогенеза (в 16,7% случаев), функциональной незрелости фронто-таламической системы (ФТС) (в 29,2% случаев), дефицита неспецифической активации (в 8,3% случаев).

Для оценки влияния степени функциональной зрелости мозга на показатели функции произвольного внимания использовался многофакторный дисперсионный анализ ANOVA, при этом учитывались следующие критерии функциональной зрелости мозга: функциональная незрелость коры и функциональная незрелость регуляторных систем (ФЗНРС).

Корреляционный анализ с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена позволил обнаружить, что между признаками ФЗНРС и показателями объема внимания существует слабая положительная ($r = 0,45$), но достоверная ($p < 0,05$) взаимосвязь.

Особый интерес в связи с исследованием формирования мозговых особенностей произвольного внимания представляют результаты анализа степени функциональной незрелости РС мозга детей, поскольку несоответствие возрастной норме функционального состояния РС затрудняет процессы познавательной деятельности. Согласно результатам дисперсионного анализа, значимых влияний на свойства функции внимания со стороны глубинных регуляторных структур (ФЗНРС) обнаружено не было. Однако парное сравнение трёх уровней данного фактора позволило выявить специфичность влияния ФЗНРС на формирование произвольного внимания ребёнка, которое проявляется в наличии достоверной зависимости между фактором незрелости системы неспецифической активации и развитием объема внимания ($p < 0,05$).

Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о том, что состояние ФТС и системы неспецифической активации оказывало влияние, прежде всего на такое свойство внимания, как объём.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ТИМУСА КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ПИТАНИЯ

Клюева Ю.Н.¹, Арташян О.С.²

¹ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина;

²ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

usr971@yandex.ru

Ограничение питания животных, как воздействие проявляется в поддержании морфофункционального состояния тимуса, замедляя его инволюцию и перерождение, а также в сохранении его клеточности и массы, но практически не влияет на возрастное изменение соотношения коркового и мозгового вещества, толщины капсулы и клеточный состав органа.

Опыты были выполнены на 55 крысах линии Вистар. Животные разделялись на экспериментальные группы. 1. Контрольные животные – интактные крысы в возрасте 6 месяцев, получавшие ежедневное сбалансированное питание. 2. Опытные животные – 12, 18 и 24 месяца на разных режимах питания: а) животные с ежедневным сбалансированным питанием (ПП); б) животные с ограниченной диетой, получавших питание через день (ОП). Эксперимент проводился в течение 7 месяцев. Определяли вес тимуса и проводили подсчет клеточности. На препаратах измерялись: соотношение коркового вещества (КВ) и мозгового вещества (МВ) тимуса, %; толщина капсулы тимуса, мкм; клеточный состав тимуса, на 100 клеток.

На тканевом уровне в тимусе крыс (ПП И ОП) с возрастом усиливались деструктивные процессы: уменьшалась площадь КВ с $57 \pm 1\%$ в 6 мес. до $45 \pm 6,6\%$ в 24 мес., стиралась граница между КВ и МВ, и утолщалась капсула органа с $35,1 \pm 2,7$ мкм у молодых и до $53,2 \pm 4,1$ мкм в старом возрасте. В группе годовалых животных возрастные изменения в КВ и МВ органа характеризовались снижением доли КВ и уменьшением зональной плотности тимоцитов. У старых животных с ПП наиболее сильно выражена жировая инволюция тимуса. Однако, ограничение питания, по-видимому, тормозит возрастную жировую инволюцию органа. У старых животных, получавших менее калорийное питание, в тимусе были частично сохранены

междольковые септы, четко выделена капсула органа. Клеточный состав органа также подвергается возрастным изменениям в сторону инволюции. Уже у 1,5-годовалых крыс наблюдается прогрессирующее снижение числа зрелых Т-лимфоцитов, особенно в группе с ПП на 6,3% по сравнению с молодым возрастом. У старых животных количество гранулоцитов увеличено по сравнению с контролем в 1,5-2,5 раза. Однако в группе животных с ОП, количество гранулоцитов меньше чем, в группе с полным питанием. Возможно, при ограничении питания негативные воспалительные процессы, связанные со старением организма могут быть приостановлены.

Таким образом, проанализировав разные морфометрические показатели тимуса, можно сделать вывод о неоднородности изменений его структуры и клеточного состава с возрастом. Режим питания также по-разному влияет на эти процессы.

ПОЛУЧЕНИЕ МЕГАКАРИОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ИЗ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ EX VIVO

Ключников Д.Ю.¹, Тюмина О.В.², Языкова М.Ю.¹, Волчков С.Е.², Трусова Л.М.²

¹ФГБОУ ВПО Самарский государственный университет; ²ГБУЗ Самарский областной центр планирования семьи и репродукции, Самара, Россия

dmklyu@gmail.com

Химиотерапия с трансплантацией прогениторных клеток широко применяется при лечении гемобластозов и негематологических опухолей. Пуповинная кровь (ПК) давно используется в качестве источника репопулирующих клеток, но существуют ограничения для её более широкого применения. Если количество прогениторных/стволовых клеток может быть достаточно для детей, то для взрослых требуется их экспансия. По сравнению с костным мозгом и мобилизованной периферической кровью, трансплантация ПК сопровождается отсроченным приживлением, в частности медленным восстановлением тромбопоэза. При этом котрансплантация полученных *ex vivo* коммитированных мегакариоцитарных предшественников может стать способом для снижения периода тромбоцитопений. В данной работе дана оценка получения мегакариоцитарных предшественников и мегакариоцитов из CD34+ клеток.

В качестве источника CD34+ клеток использована ПК доноров. Культивирование проводилось в 24 луночных планшетах при 37°C и 5%CO₂ в течение 16-18 суток. ГСК вносились в количестве 1x10⁴ кл/мл среды, содержащей 20% ВIT 9500, 20 мкг/мл ЛПНП, а также смесь ТПО-30 нг/мл; ИЛ-6-7,5 нг/мл; ИЛ-9-13,5 нг/мл; SCF-5 нг/мл.

Анализ проводился с помощью проточной цитометрии с использованием антител против CD34 и CD41a, и световой микроскопии. Показано, что к 5 суткам количество CD34+ клеток увеличилось с 4,45±0,35 до 25,4±0,14% от общей популяции. Уже с 7 суток наблюдалось снижение доли незрелых CD34+ (до 3,45±0,07% от общей популяции на 12 сутки), связанное с тем, что клетки дифференцировались в более зрелые мегакариоцитарные предшественники (CD34+/CD41a+), процент которых к 12 суткам составлял 15,95±0,35% от общей популяции. Пик CD34+/CD41a+ клеток приходился на 9-12 сутки. Наибольшее количество CD34-/CD41a+ клеток было получено на 12 сутки (до 5,2%). Отмечено, что лишь малая часть мегакариоцитарных предшественников образует в культуре зрелые мегакариоциты, способные в дальнейшем образовывать тромбоциты. При снижении доли CD34+/CD41a- клеток увеличивался процент CD34+/CD41a+, при этом, пик образования мегакариоцитов (CD34-/CD41a+) приходится как раз на падение процента CD34+/CD41a+ клеток. Созревая, ГСК утрачивают CD34 маркер и становятся более зрелыми сначала мегакариоцитарными предшественниками, а затем мегакариоцитами, присутствие которых было подтверждено при микроскопии. Использование предложенного сочетания цитокинов позволяет не только получить мегакариоциты в условиях *ex vivo*, но и на первом этапе способствует экспансии CD34+ клеток.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОРТИКО-ВИСЦЕРАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НА УРОВНЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО КРОВОТОКА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Козина В.И., Красников Г.В.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им.
Л.Н. Толстого, Тула, Россия

gvkrasnikov@gmail.com

Цель работы – исследование роли кортикальных влияний как модулирующего фактора в формировании колебаний кровотока на уровне системы микроциркуляции кожи у человека. Исследование проведено в группе из 18 практически здоровых студентов обоего пола 18-22-летнего возраста на условиях добровольного информированного согласия. Регистрацию уровня микроциркуляторного кровотока кожи осуществляли методом лазерной доплеровской флоуметрии (двухканальный флоуметр ЛАКК-02 (ЛАЗМА, Россия). Зонды флоуметра располагали на левой руке в зонах с различной плотностью симпатической сосудистой иннервации: на ладонной поверхности ногтевой фаланги пальца и наружной поверхности предплечья вблизи лучезапястного сустава. В ходе эксперимента испытуемые на основе организованной биологической обратной связи (БОС) пытались произвольно управлять ритмической структурой колебаний кровотока. Управление волновой динамикой периферического кровотока осуществляли посредством синхронизации визуализированной динамики собственных параметров кровотока с предъявляемым аудиосигналом. В качестве аудиосигнала использовали амплитудно-модулированный белый шум с частотами модуляции 0.02, 0.04, 0.1 и 0.3 Гц. Продолжительность эксперимента составляла 10 минут для частоты 0.02 Гц и 5 минут для каждой из частот 0.04, 0.1 и 0.3 Гц. Анализ сигналов выполняли на основе амплитудно-частотных спектров, полученных посредством непрерывного адаптивного вейвлет-преобразования.

В условиях нашего эксперимента большинство испытуемых (16 из 18 человек) продемонстрировали успешные попытки синхронизации колебаний кровотока и внешнего аудиосигнала. При этом амплитуда колебаний кровотока на целевых частотах синхронизации достоверно увеличивалась по сравнению с нативным состоянием. Величина эффекта не зависела от исследуемой области конечности и целевой частоты синхронизации. Амплитуда колебаний кровотока в условиях БОС увеличивалась в среднем в 1.7 раза пропорционально амплитуде колебаний на соответствующей частоте в нативном состоянии.

Таким образом, кортикальные влияния могут оказывать значимое модулирующее влияние на формирование колебаний кровотока на уровне системы гемомикроциркуляции кожи человека.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ АНОКТАМИНА-1 В ОБОНЯТЕЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ МЫШИ

Колесникова А.С., Быстрова М.Ф.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

alisask@rambler.ru

Хлорные каналы, активируемые кальцием, впервые были открыты в 1981 с использованием методов электрофизиологии и затем обнаружены в клетках различных типов. Несмотря на последующие интенсивные биофизические и физиологические исследования, попытки молекулярной идентификации этого типа ионных каналов долгое время были безуспешными. Только в 2008 году сразу три лаборатории с использованием различных подходов обнаружили, что белок ТМЕМ16А (синоним аноктамина-1) отвечает за кальций-зависимый хлорный ток. Затем еще один представитель этого семейства, аноктамин-2, был клонирован из обонятельного эпителия, и были получены доказательства, что он отвечает за кальций-активируемые хлорные токи в обонятельных нейронах. Однако животные с нокаутом гена, кодирующего аноктамин-2, сохраняли способность отвечать на запахи. Следовательно, есть еще какие-то молекулы, отвечающие за кальций-зависимый хлорный ток в обонятельных нейронах.

С использованием метода ОТ-ПЦР мы впервые обнаружили, что в обонятельном эпителии мыши экспрессирована мРНК аноктамина-1. Локализация аноктамина-1 была исследована с помощью иммунофлуоресцентного анализа гистологических срезов обонятельного эпителия

трансгенных мышей, у которых ген GFP экспрессирован под контролем промотора OMP - маркера зрелых обонятельных нейронов. У таких мышей зрелые нейроны, установившие контакт с обонятельной луковицей, обладают зеленой флуоресценцией. Для локализации аноктамина-1 мы использовали коммерческие специфические антитела и вторичные антитела, меченные AlexaFluor-647 с красной флуоресценцией. Обонятельный эпителий содержит три основных клеточных типа, расположенных рядами. Нижний ряд образован базальными клетками, далее следуют несколько рядов обонятельных нейронов, и верхний ряд образован опорными клетками. С помощью конфокальной микроскопии на срезах обонятельного эпителия красная флуоресценция была обнаружена в цитоплазматической мембране обонятельных нейронов, в опорных клетках она не детектировалась. При совмещении зеленой и красной флуоресценции поверхность зрелых зеленых нейронов окрашивалась желтым, мембраны незрелых нейронов имели красную флуоресценцию.

Эти результаты позволяют сделать вывод, что аноктамин-1 локализован в цитоплазматической мембране зрелых и незрелых обонятельных нейронов. К настоящему времени установлено, что аноктамин-1 экспрессирован в вомеронасальных нейронах, отвечающих за детекцию ферромонов, а также в синаптических терминалах фоторецепторных клеток. Мы впервые получили доказательства локализации этого белка в обонятельных нейронах мыши.

БЕЛКИ, УЧАСТВУЮЩИЕ В АКТИВАЦИИ И ПОДДЕРЖАНИИ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО ВХОДА КАЛЬЦИЯ В НЕЙРОНАЛЬНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА

Колобкова Ю.А., Вигонт В.А.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

kolobkova_yulia@mail.ru

Болезнь Хантингтона (БХ) – это нейродегенеративное заболевание, вызванное умножением в первом экзоне гена белка хантингтина кодона CAG, кодирующего глутамин. В норме количество глутамин-кодирующих повторов не превышает 35, в то время как при заболевании наблюдаются полиглутаминовые тракты длиной до 90 и более глутаминов.

В последнее время появляется все больше работ, в которых патогенез нейродегенеративных заболеваний, в том числе БХ, связывают с нарушениями нейрональной кальциевой сигнализации.

Кальций является универсальным вторичным посредником в клетке. Один из наиболее общих типов притока кальция из внеклеточной среды в цитозоль – депо-управляемый кальциевый вход, для активации которого необходимо понижение концентрации кальция во внутриклеточных депо.

Так как при БХ, в первую очередь, страдают нейроны стриатума (MSN), особый интерес представляет изучение нарушения кальциевой сигнализации в модели БХ на первичной культуре MSN.

Для создания модели БХ в клетках первичной культуры нейронов стриатума мыши мы использовали лентивирусную инфекцию, с помощью которой проэкспрессировали 1-й экзон мутантного белка хантингтина, содержащего полиглутаминовый тракт длиной 138 остатков глутамина (клетки MSN-138Q).

Результаты электрофизиологических экспериментов (метод Patch-clamp в конфигурации whole-cell) показали, что депо-управляемый вход кальция в клетках MSN-138Q существенно (в 2 раза) выше, чем в клетках, экспрессирующих 1-й экзон хантингтина с длиной тракта 15 остатков глутамина (что является нормой) и в интактных клетках MSN.

Важными участниками регуляции депо-управляемого кальциевого входа. в клетках являются каналобразующие белки TRPC1, Orai1 и белок STIM1 – сенсор кальция в люмене эндоплазматического ретикулума.

Для того, чтобы исследовать роль данных белков в поддержании депо-управляемого входа в клетках MSN-138Q мы подавили их экспрессию в этих клетках с помощью малых интерферирующих РНК.

Регистрация депо-управляемых токов показала, что в нейронах MSN-138Q, моделирующих БХ, депо-управляемый вход кальция в условиях супрессии белков STIM1, TRPC1 и Orai1 снижался, примерно на 60-70%.

Таким образом, данные белки могут рассматриваться в качестве потенциальных терапевтических мишеней при лечении БХ.

Работа поддержана грантом РФФИ (14-04-31137), грантом НШ-1721.2014.4 и программой Президиума РАН молекулярная и клеточная биология.

НАРУШЕНИЕ ГОМЕОСТАЗА ЖЕЛЕЗА ПРИ РАЗВИТИИ АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛЯ

Куприянова Е.С., Наумов А.А., Поцелуева М.М.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ФГБОУ ВПО
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

katya.kypri@gmail.com

Анемия является довольно распространенным осложнением онкологических заболеваний, встречающемся более чем у 30 % больных раком. Ее лечение увеличивает выносливость и качество жизни больных, поэтому ее своевременное обнаружение и изучение этиологии является необходимым условием эффективной борьбы с опухолевыми заболеваниями.

Целью работы стало изучение ключевых параметров гомеостаза железа в крови и асцитической жидкости опухоленосителя. В качестве объекта исследования использовали крыс-самцов линии Вистар, которым была трансплантирована асцитная гепатома Зайделя. Продолжительность жизни животных составила 7 суток. Была изучена динамика основных показателей крови. Концентрация гемоглобина и эритроцитов в крови была ниже у животных-опухоленосителей по сравнению с контролем, причем динамика имела тенденцию к снижению по мере развития опухоли (уменьшение на 25% к концу жизни), что говорит о развитии анемии. Среднее содержание гемоглобина в эритроците практически не изменяется, лежит в диапазоне 18,6 – 22,4 пг/кл. и находится на одном уровне с контролем ($20,4 \pm 0,6$ пг/кл.). Увеличение содержания в крови лейкоцитов в 3-5 раз, их АФК-активности и падение антиоксидантной емкости говорит о развитии окислительного стресса. Начиная с 5 дня развития опухоли, в плазме больных животных наблюдается гипоферремия, характеризующаяся снижением на 40% концентрации железа по сравнению с контролем.

Чтобы определить, были ли установленные изменения параметров вызваны изолированием железа, что наблюдается при анемии воспалений чаще, чем при железодефицитной анемии, развивающейся при недостатке железа в пище или кровотечениях, была проведена оценка концентрации железа с помощью атомно-абсорбционной спектрофотометрии в основных железосеквстрирующих органах – печени и селезенке. Уже с первого дня развития опухоли в печени наблюдалось более высокое содержание железа, чем в контроле ($46 \pm 12,3$ мг/кг и $34,5 \pm 9,2$ мг/кг, соответственно), причем динамика его увеличивалась и на 6 сутки концентрация железа достигла 65,8 мг/кг. Концентрация железа в клетках селезенки лежит в диапазоне 123 – 263 мг/кг, остается на одном уровне с контролем ($158,5 \pm 44,3$ мг/кг).

При изучении параметров гомеостаза железа в зоне развития опухоли было установлено, что концентрация негемового железа в асцитной жидкости не изменяется, находится в диапазоне 8-15 мкмоль/л, при этом концентрация гемоглобина увеличивается на 60%. Общее количество измеренного на 7 сутки железа в опухолевых клетках составило $45 \cdot 10^{-5}$ г.

Таким образом, в данной модели опухолевого процесса наблюдается развитие анемии, вклад в которую вносит недоступность железа из одного из основных его запасующих источников – печени, потребность в данном микроэлементе опухолевых клеток при их размножении, а также отток гемоглобина в зону роста опухоли с эритроцитами, которые, под действием кислой среды асцита, разрушаются.

КАЛЬЦИЕВАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ, ИНИЦИИРУЕМАЯ ПУРИНЭРГИЧЕСКИМИ АГОНИСТАМИ В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Котова П.Д.¹, Фадеева Ю.И.², Агеева Л.В.², Рогачевская О.А.¹, Сысоева В.Ю.²

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино; ²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

polinakotova88@gmail.com

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию пролиферирующих недифференцированных клеток, включающую мультипотентные стволовые клетки. Хотя МСК исследуются очень активно, существующие представления об их рецепторных и сигнальных системах весьма ограничены. В данной работе исследовалась Ca^{2+} сигнализация в МСК в части, касающейся P2Y рецепторов, сопряженных с фосфоинозитидным каскадом. МСК выделялись из жировой ткани человека, поддерживались в культуре, и изучались с использованием микрофотометрии, Ca^{2+} зондов и ингибиторного анализа.

Ранее нами было показано, что популяция МСК гетерогенна по чувствительности к различным агонистам рецепторов. При исследовании адренергической сигнальной системы нам удалось проследить основные этапы генерации Ca^{2+} ответов МСК на норадреналин. Так, было установлено, что активированный адренорецептор при участии G-белка активирует фосфолипазу C (PLC), которая гидролизует PIP2 до IP3 и DAG, IP3 стимулирует IP3 рецепторы что приводит к первоначальному градуальному выбросу депонированного Ca^{2+} , который усиливается за счет кальций-индуцированного выброса Ca^{2+} из внутриклеточных депо (CICR), независимого от концентрации агониста. В настоящей работе анализировалась система трансдукции пуринаргических агонистов в МСК. Оказалось, что основные этапы генерации ответов на АТФ идентичны таковым для норадреналина. В частности, было показано, что МСК генерировали нормальные по амплитуде и кинетике ответы на АТФ в отсутствие внешнего Ca^{2+} . Это свидетельствовало о том, что в генерации ответа задействованы преимущественно метаболитные P2Y рецепторы, и что основной вклад в Ca^{2+} ответ вносит выброс депонированного Ca^{2+} . Ингибитор PLC U73122 полностью подавлял ответы на АТФ. Это свидетельствовало о том, что P2Y рецепторы в МСК сопряжены с PLC, которая гидролизует PIP2 до IP3 и DAG с последующей стимуляцией IP3 рецепторов, о чем свидетельствовали эксперименты с ингибиторами рианодиновых и IP3 рецепторов. В экспериментах, со скачкообразным повышением концентрации внутриклеточного Ca^{2+} за счет фотолиза Ca^{2+} хелатора NP-EGTA, было показано, что также как и в адренергических МСК, в пуринаргических МСК функционирует механизм CICR.

Таким образом, феноменологическое сходство Ca^{2+} ответов на норадреналина и АТФ указывает на возможность существования у МСК универсального механизма трансдукции агонистов различных рецепторов, сопряженных с фосфоинозитидным каскадом.

Работа поддержана РФФИ №14-04-01711-а и РНФ №14-14-00687.

ВЛИЯНИЕ ОСЛАБЛЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА КРОВЬ И ФЕРМЕНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭМБРИОНОВ *G. GALLUS*

Кочарян Я.Ю., Емельянова М.С., Ломаев Г.В.

ФГБОУ ВПО Ижевский государственный технический университет им.

М.Т. Калашникова, Ижевск, Россия

yana.kocharyan@yandex.ru

Наличие стресс-факторов в современных инкубаториях приводят к патологическим изменениям в метаболизме на уровне клеток, тканей, органов. Как следствие, возрастают количество отходов инкубации и процент вывода некондиционного молодняка, что в свою очередь снижает рентабельность производства в целом.

Ранее полученные данные подтверждают взаимосвязь жизнедеятельности живого организма и вариаций магнитного поля Земли.

Целью исследования является изучение влияния гипогеомагнитного поля на показатели крови и ферментную активность эмбрионов *G. gallus*. В качестве биологического объекта исследования было использовано инкубационное яйцо от кур кросса «Ломан Браун Классик».

Исследования показали, что кровь эмбрионов изменяется в зависимости от уровня ослабления магнитного поля Земли: чем сильнее ослабление, тем ниже значение рассматриваемого параметра крови. Наиболее близкими к контрольным значениям является параметры крови эмбрионов, находившихся в ослабленном в два раза МП относительно МП Земли. Кровь эмбрионов из опытных групп №№2,3 (ослабление поля в 4 и 6 раз соответственно) характеризуется более низкими показателями.

Количество лейкоцитов в крови интенсивно нарастало с 7 по 11 сутки. За этот период времени в контрольной группе данный показатель увеличился в 5 раз, а в опытных - в среднем в 3 раза. К 18 контрольным суткам наблюдалось некоторое снижение содержания клеток белой крови, причем в контроле и опыте №1 данный процесс был более выражен относительно двух других опытных групп. Концентрация эритроцитов в крови значительно увеличилась лишь в двух группах: контрольной и первой опытной.

Антиоксидантная активность (АОА) рассчитывается как относительная величина путем расчета соотношения экстинкций при некотором времени протекания реакции. В проведенном исследовании реакцию аутоокисления адреналина наблюдали в течение 10 минут, измеряя оптическую плотность через каждые 30 секунд. Такое время экспозиции выбрано в связи с высокой интенсивностью образования продукта окисления адреналина в этот промежуток времени.

Расчет АОА показал, что практически все исследуемые пробы биологического материала проявляют антиоксидантную активность, единственный образец в опыте с ослаблением МП в 6 раз (биоматериал сердечной мышцы) проявил прооксидантную активность. Наиболее ярко данный показатель проявляют клетки биоматериала из опыта с ослаблением МП в 2 раза.

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

**Кравченко П.Н.¹, Жулай Г.А.¹, Чуров А.В.¹, Олейник Е.К.¹, Барышева О.Ю.²,
Олейник В.М.², Выбач М.В.²**

¹ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН; ²ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

k-polina13@mail.ru

Для успешной диагностики и терапии ревматоидного артрита (РА) необходимо понимание механизмов развития данного заболевания. В связи с этим целью исследования было изучение состояния клеточного иммунитета при РА. Определяли содержание CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺ Т-клеток, CD19⁺ В-лимфоцитов и CD16⁺CD56⁺ NK-клеток, а также количество регуляторных Т-клеток (Treg) (CD4⁺FOXP3⁺, CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺) в периферической крови больных.

Было исследовано 40 образцов периферической крови (20 больных РА в возрасте 61,3±10,3 год и 20 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту). Все больные получали базисную терапию. Анализ популяций лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии. Достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна-Уитни (p<0,05).

У больных РА происходит увеличение CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов по сравнению с контролем (46,2±9,5% и 39,2±6,7%, p<0,05), в то время как уровень CD3⁺CD8⁺ Т-клеток не изменялся. В связи с этим у больных РА наблюдали сдвиг соотношения CD4⁺/CD8⁺ Т-клеток в сторону Т-хелперов, и регуляторный индекс составил 3,0±0,5, что в 1,8 раз превышает контроль. Уровень экспрессии молекулы активации CD25 в популяции Т-хелперов у больных РА был также значительно выше (22,5±8,1% и 13,3±1,1% от CD4⁺ клеток, соответственно). Характерным для исследованных больных было увеличение содержания в крови В-клеток (11,72±4,3% против 7,82±1,3% в контроле), в то время как значительных отличий по уровню CD3⁺ Т-клеток и NK-клеток не было выявлено. Анализ фенотипов лимфоцитов, ассоциированных с Tregs, позволил выявить увеличение числа CD4⁺FOXP3⁺ у больных РА по сравнению с контролем (7,1±3,3% и

4,6±1,2%, соответственно), содержание CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клеток не отличалось от контроля.

Таким образом, оценка клеточного иммунитета у больных РА показала количественные изменения некоторых субпопуляций лимфоцитов и, в частности, выявила увеличение CD4⁺FOXP3⁺ Treg в периферической крови.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект №13-04-98826, программы стратегического развития ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет» и Гранта Президента РФ №МК-3680.2015.7.

ИССЛЕДОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХОНДРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ У КРЫС

Крылов П.А.

ФГАОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

p.krylov.volsu@yandex.ru

Гиалиновый хрящ обладает структурными и функциональными особенностями, которые обеспечиваются экстрацеллюлярным матриксом (ЭЦМ). Особенность ЭЦМ заключается в наличии специфических молекул, таких как аггрекан и лубрицин. Аггрекан является ключевым компонентом средней зоны участвующий в процессе формирования структуры суставного хряща, лубрицин синтезируется в поверхностной зоне хряща и выполняет функцию смазочного компонента на суставной поверхности. Развитие остеоартроза приводит к снижению концентрации данных молекул, что приводит к повреждению суставного хряща.

Цель работы – изучить активность синтетического аппарата хондроцитов в динамике развития экспериментального остеоартроза у крыс.

Исследование проводили на 20 белых крысах-самцах линии Wistar. Экспериментальный остеоартроз вызывали перерезкой передних крестообразных связок обоих коленных суставов у 14 животных, контрольная группа состояла из 6-ти животных. Животных выводили из эксперимента спустя 12 недель с момента инициализации процесса. Для выявления синтетической активности применяли иммуногистохимические методики. Использовали козы моноклональные антитела к аггрекану, как маркеру синтетически активных хондроцитов средней зоны суставного хряща, и к лубрицину, с которым ассоциировали синтетическую активность хондроцитов поверхностной зоны. Визуализацию проводили в системе Fast Red.

Полученные экспериментальные данные показали, что при развитии остеоартроза у крыс синтетическая активность хондроцитов снижается. Синтез аггрекана в промежуточной зоне на 12 недели снизилась на 19% от величины показателя у контрольных животных, а синтез лубрицина в поверхностной зоне снизилась на 45% от величины показателя у контрольных животных. Данные показатели свидетельствуют о том, что при остеоартрозе снижается синтетическая активность хондроцитов, такое снижение лубрицина и аггрекана приводит к разрушению гиалинового хряща.

Получение результаты дают представление об участии изменений синтетического аппарата хондроцитов в развитии остеоартроза в суставном хряще. Дальнейшее исследование будет направлено на изучение роли рецепторного аппарата хондроцитов в регуляции их синтетической активности при развитии остеоартроза.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ ВАХТОВЫХ РАБОТНИКОВ, ЗАДЕЙСТВОВАННЫХ ПРИ ОСВОЕНИИ АРКТИЧЕСКИХ ТЕРРИТОРИЙ

Кузьмина Н.А.^{1,2}, Болотова К.С.¹, Дегтева Г.Н.²

¹ФГАОУ ВПО Северный (Арктический) федеральный университет им.

М.В. Ломоносова; ²ФГБОУ ВПО Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия

natik_kuzmina@mail.ru

В настоящее время к приоритетным направлениям исследований относится обеспечение комфорта и безопасной жизнедеятельности человека в Арктике. Воздействие комплекса

экстремальных условий экспедиционно-вахтового труда и особенности рациона питания влияют на работоспособность и здоровье людей, работающих в условиях Арктики.

Целью работы являлась оценка фактического питания вахтовых работников, осуществляющих деятельность в условиях Арктики, и составление рекомендаций по устранению дефицита макронутриентов, минеральных веществ и витаминов.

В 2014 г в рамках экспедиции на компрессорной станции Ямало-ненецкого автономного округа проводили исследование фактического питания вахтовых работников. Исследование носило междисциплинарный характер с привлечением сотрудников НИИ Арктической медицины СГМУ и САФУ им. М.В. Ломоносова.

Использовали анкетно-опросный метод оценки двухнедельного меню путем сравнения фактического содержания компонентов питания с нормами физиологических потребностей. Для расчетов использовали выборку вахтовых работников в количестве 65 человек с учетом возрастных групп и групп физической активности. Исследовали мужчин с I по III возрастную группу, из которых количественно преобладала II возрастная группа (с 30 по 39 лет) – 40 человек. В отношении классификации по группам физической активности преобладала III группа (работники среднего по тяжести труда) – 30 человек.

При сравнении с фактическими значениями питания по макронутриентам, витаминам и минеральным веществам, установлен дефицит витамина А (ниже в 5,6 раз), бета-каротина (ниже в 2 раза), витамина В2 (ниже в 1,5 раза), витамина С (ниже в 1,76 раз) и кальция – в 2 раза. Кроме того, установлено превышение нормы витамина В1 в 2 раза, натрия – в 5 раз, фосфора – в 2 раза и железа – в 2 раза. Пищевая ценность питания по соотношению белки:жиры:углеводы составила 1,00:1,35:3,58, что является приемлемым соотношением для населения северных территорий (Е. Р. Бойко, 2009).

На основании полученных результатов предложены рекомендации по корректировке питания за счет разработки функциональных продуктов, в частности полифункциональных витаминизированных безалкогольных напитков. В качестве ресурсов для составления рецептуры и/или обогащения продуктов питания предложено использование региональных биоресурсов, таких как северные ягоды, водоросли, растительное сырье.

ВЛИЯНИЕ ТРЕМАТОД НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ САМОК *LITTORINA SAXATILIS* В ЕСТЕСТВЕННЫХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Кулеш К.С., Кравец П.П.

ФГБОУ ВПО Мурманский государственный технический университет,
Мурманск, Россия

madam-kulesh@mail51.ru

Littorina saxatilis – раздельнополый, яйцеживородящий брюхоногий моллюск, принадлежащий к семейству Littorinidae. Данный вид – один из промежуточных хозяев трематод. Вследствие заражения литторин утрачивается способность к размножению – половая система подвергается редукции. При высоком уровне инвазии трематодами снижается редукционный потенциал поселения, и включаются защитные механизмы моллюсков к условиям среды. Для изучения подобных механизмов необходимо исследовать поведенческие особенности заражённых моллюсков как в естественных, так и в экспериментальных условиях.

Цель работы – изучение влияния трематод на физиологические особенности самок *L. saxatilis* при различных уровнях инвазии в естественных и в экспериментальных условиях.

Исследование проводили в летний период на литорали губы Чупа Белого моря в бухтах Левая (2014 г.), Круглая (2013 г.) и Сельдяная (2013 г.). В кутовой, средней и устьевой частях бухт при помощи рамки 50х50 см моллюсков отбирали в трехкратной повторности с каждого горизонта литорали. Далее литторин взвешивали и измеряли высоту раковины. При вскрытии определяли пол, вид моллюска, считали количество эмбрионов в выводковой сумке самок и осматривали на наличие трематод.

Для решения поставленной цели был проведен эксперимент. Для этого моллюсков отобрали в бухте Белокаменная в летний период (Кольский залив, Баренцево море). Затем гастропод поместили в пластиковую ёмкость объёмом 1 л, наполненную морской водой с

солёностью 26 ‰. Смену морской воды производили каждый день. Опыт проводили при температуре 8°C. Половину свежесобранных моллюсков (50 экз.) сразу вскрыли, другую половину (50 экз.) вскрыли через месяц в целях более успешной реализации заражения *L. saxatilis* трематодами.

В бухтах Круглая и Левая губы Чупа уровень заражённости *L. saxatilis* очень низкий (не превышает 2 ‰), в бухте Сельдяная моллюски не были подвержены заражению.

При паразитарной инвазии трематодами меняются не только поведенческие особенности моллюска – он стремится держаться на расстоянии от морской воды – но также изменения происходят и в половой системе. Выводковая сумка самок *L. saxatilis* меняет форму, становится более вытянутой. Данное явление особенно ярко проявляется у самок с отсутствием эмбрионов или содержащих несколько зрелых эмбрионов.

В ходе эксперимента выявлено, что после длительного контакта с заражёнными особями моллюски *L. saxatilis*, содержащие в выводковой сумке от 50 до 100 и >100 эмбрионов проявили достаточно высокую резистентность к заражению. Среди особей с 1-10-ю эмбрионами инвазированными оказались все гастроподы, среди моллюсков с 10-50-ю эмбрионами – больше половины.

Необходимо отметить, что у беломорских *L. saxatilis* при низкой экстенсивности паразитарной инвазии в исследуемых районах встречаются молодые особи с незрелыми эмбрионами, количество которых находится в пределах от <50 до >100.

Таким образом наиболее адаптированными являются особи, которые способны внести максимальный вклад в развитие поселения, оставив значительное количество потомства, для дальнейшего увеличения численности в условиях высокого уровня паразитарной инвазии.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ЧАСТОТ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ VEGF И PPARG И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ С КВАЛИФИКАЦИЕЙ СПОРТСМЕНОВ ПОЖАРНО-СПАСАТЕЛЬНОГО СПОРТА

**Кундас Л.А.¹, Жур К.В.¹, Нестеренко Е.В.¹, Головкова И.В.², Питомец С.П.²,
Моссэ И.Б.¹**

¹ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси; ²ГУ Республиканский центр спортивной медицины, Минск, Беларусь

kundas11@gmail.com

Выявление генетической предрасположенности к высоким спортивным достижениям является актуальной задачей современных научных исследований. С накоплением знаний о генетических маркерах предрасположенности к физической деятельности постепенно закладываются основы принципиально новой системы медико-генетического обследования спортсменов, которая может оказать помощь в отборе талантливых спортсменов, а также в планировании и коррекции тренировочного процесса.

Целью данного исследования являлось изучение вклада генов успешности в предрасположенность к высоким спортивным достижениям у спортсменов пожарно-спасательного спорта (ПСС) и анализ метаболических показателей основных источников энергообеспечения мышечной деятельности в зависимости от квалификации спортсмена.

В качестве биологического материала для исследования использовалась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови 38 спортсменов ПСС и 160 человек контрольной группы. Исследование генов VEGF и PPARG проводилось методом ПЦР. Известно, что данные гены увеличивают энергетические и окислительные способности мышц при выполнении длительных физических нагрузок. Анализ основных показателей энергообеспечения мышечной деятельности спортсменов проводился по системе многофакторной экспресс-диагностики (система Д-тест).

Полученные результаты показывают, что существует корреляция между спортивной квалификацией и наличием благоприятных генотипов Pro/Ala гена PPARG, и C/C гена VEGF - у более квалифицированных спортсменов чаще выявляются благоприятные варианты генов.

В результате анализа показателей Д-теста в группах спортсменов различной квалификации обнаружено, что значения метаболических показателей частоты сердечных сокращений на

пороге анаэробного обмена, максимального потребления кислорода и частоты сердечных сокращений при максимальном потреблении кислорода достоверно выше в группе заслуженных мастеров спорта и мастеров спорта международного класса, по сравнению с группой кандидатов в мастера спорта и мастеров спорта.

Полученные результаты позволяют включить исследуемые полиморфизмы генов PPAR α , VEGF в диагностический комплекс для отбора перспективных спортсменов и для оптимизации процессов тренировки.

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕШЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ЗАДАЧ В ПРОЦЕССЕ АРОМАКОРРЕКЦИИ

Кундупьян О.Л., Кундупьян Ю.Л., Бибов М.Ю.

ФГБОУ ВПО Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Ростов-на-Дону, Россия

olkundupyan@sfnu.ru

Ароматические масла широко применяются в коррекции функционального состояния (ФС) ЦНС. В литературе существуют данные что, масло розмарина обладает мощным активирующим действием на структуры головного мозга, улучшает работу зрительного анализатора, а масло Melissa обладает релаксирующим действием. Целью нашего исследования было изучить динамику времени реакции (ВР) и спектральные характеристики ЭЭГ при решении когнитивных задач в отсутствии и присутствии масел розмарина и Melissa.

В исследование принимали участие 40 человек, средний возраст - 26 лет. В качестве модели деятельности использовали вербальные и невербальные задачи. Каждый обследуемый участвовал в двух экспериментальных сериях. В первой серии обследуемый должен был проанализировать 100 слайдов для каждой задачи, исключая неподходящее по смыслу слово или картинку на слайде без одоранта, а во второй серии - в присутствии одоранта (розмарина или Melissa). В исследовании использовали ароматическое масло розмарина или Melissa («Горо», г. Ростов-на-Дону), которое предъявляли обследуемому в течение 5 мин открытым способом на расстоянии 2 см от кончика носа. Во время выполнения теста регистрировали ВР, ЭЭГ. Оцифрованная ЭЭГ и ВР экспортировались в программную среду MATLAB, где проводилась дальнейшая обработка сигналов.

Анализ ВР показал, что розмарин ускорял время решения вербальных и невербальных задач, а Melissa действовала избирательно, замедляла время решения вербальных задач и ускоряла решение невербальных задач. Сравнение спектральных характеристик ЭЭГ показало, что достоверные изменения наблюдали только в диапазоне дельта- и тета-активности. Решение когнитивных задач в присутствии розмарина сопровождалось ФМВ дельта-активности в передних областях коры, а в присутствии Melissa – наблюдали лобно-центральный и теменно-затылочный ФМВ дельта-активности. Анализ тета-активности показал, что решение когнитивных задач на фоне розмарина сопровождается двумя ФМВ в передних и задних областях коры, а в присутствии Melissa – наблюдали ФМВ в задних областях коры.

Таким образом, можно предположить, что решение когнитивных задач в присутствии розмарина сопровождается преимущественно активацией передней системы внимания, которая ответственна за формирование внимания к действию. Melissa активирует заднюю пространственно-зрительную систему внимания, которая реализует более простые задачи.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОЧАСТИЦ МЕДИ ПО ЭКСПРЕССИИ МАРКЁРОВ АПОПТОЗА

Сизова Е.А.^{1,2}, Лебедев С.В.¹

¹ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет; ²ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства, Оренбург, Россия

Sizova.L78@yandex.ru

В работе представлены результаты исследований биологических эффектов наночастиц меди при введении в организм животных на примере структурно-функциональной

реорганизации основных органов-мишеней: печени, почек, селезенки, головного мозга, интенсивности проявления уровня апоптоза.

Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Vistar массой 150-180 г, которым внутримышечно вводили водную суспензию наночастиц меди с периодичностью 1 раз в неделю в дозе 2.0 мг/кг массы животного. Отбор проб проводили через 3 час., 1 сут., 3 сут., 7 сут. после каждой инъекции. Для выявления готовности клеток к апоптозу оценивали экспрессию антигена каспазы-3. Иммуногистохимические исследования проводили на парафиновых срезах с использованием моноклональных антител и системы визуализации фирмы Bio Genex Super Sensyive Detection System (США) по протоколам фирмы производителя. Проводили подсчет иммунопозитивных клеток среди 1000 и выражали в %. При исследовании биологических эффектов наночастиц меди установлено, что наночастицы меди распределяются по органам и тканям животных, вызывая специфические для каждой ткани структурные изменения. Увеличение нагрузки наночастиц меди на организм вплоть до порогов токсического действия (МПД - максимально переносимой дозы) приводит к появлению признаков дистрофии и некроза тканей.

Показано достоверное усиление экспрессии антигена каспазы-3 в микроглиоцитах коры головного мозга при дозе 2 мг/кг массы животного, в клетках печени при суммарной дозе - 6 мг/кг массы животного, в проксимальных канальцах почек при суммарной дозе - 6 мг/кг массы животного, в клетках селезенки при суммарной дозе - 24 мг/кг массы животного. Наночастицы меди в дозе 2 мг/кг проявляют нейротоксичность. Гепатотоксичность и нефротоксичность наночастиц меди проявляется в дозе 6 мг/кг. Клетки лимфоидных фолликулов селезенки повышают экспрессию антигена каспазы-3 в ответ на введение наночастиц меди в дозе 24 мг/кг, т.е. в дозе, близкой к ЛД₁₀₀. Полученные данные свидетельствуют о высокой биологической активности наночастиц меди и позволяют определить наночастицы меди модуляторами апоптоза в организме.

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СОЗРЕВАНИЕ И ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ООЦИТОВ СВИНЕЙ IN VITRO

Лопухов А.В., Сингина Г.Н.

ФГБНУ ВНИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл., Россия

vubi_myaso@mail.ru

В настоящее время работы по соматическому клонированию и созданию биоинженерных форм с использованием данной технологии ведутся во всем мире. В качестве клеточных реципиентов для процедуры переноса ядер соматических клеток чаще всего используют ооциты, достигшие стадии метафазы II *in vitro*. Однако продолжительность периода созревания для большинства видов не детерминирована.

Настоящая работа была направлена на исследование влияния времени инкубации незрелых ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) свиней на их созревание и последующее эмбриональное развитие *in vitro*. Источником ОКК служили яичники половозрелых свинок, отобранные после убоя. Для оценки созревания, выделенные из яичников ОКК (25-30 в группе), культивировали в течение 40 - 50 часов в модифицированной среде ТС 199, затем обрабатывали 0,1% раствором гиалуронидазы, удаляли кумулюсные клетки и отбирали ооциты с первым полярным тельцем (ПТТ). Для оценки эмбрионального развития, созревшие оголенные ооциты с ПТТ искусственно активировали в среде ТС199 с 5 мМ иономицина, после чего их первые 3 часа инкубировали в среде NCSU-23, содержащей 2мМ 6-ДМАП, а затем в той же среде без указанного компонента. На 2-й и 6-й дни культивирования оценивали долю дробления и развития бластоцист. Эксперименты были выполнены в 4 повторностях. Достоверность различия оценивали с использованием критерия Тьюки. Дисперсионный анализ данных показал, что увеличение времени культивирования ОКК свиней с 40 до 50 часов не влияло существенно на долю созревания ооцитов, которая составляла 70.1 ± 10.5 (40 ч), 76.6 ± 3.9 (42 ч), 80.2 ± 3.9 (44 ч), 79.0 ± 6.3 (46 ч), 80.2 ± 6.7 (48 ч), 85.0 ± 2.5 (50 ч). Напротив, доля дробления активированных ооцитов была выше при культивировании ОКК в течение 42, 44 и

46 часов ($P < 0,05$) и составила 76.7 ± 88.2 , 77.4 ± 8.1 , 75.6 ± 1.5 соответственно, а доля развития бластоцист при культивировании в течение 44 и 46 часов ($P < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют, что продолжительность культивирования влияет на созревание ооцитов свиней и их дальнейшее развитие после искусственной активации. Оптимальным временем является период с 44 до 46 часов.

НИЗКОЧАСТОТНЫЕ ВОКАЛИЗАЦИИ ДОМОВОЙ МЫШИ (*MUS MUSCULUS*)

Лупанова А.С., Егорова М.А.

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

a.s.lupanova@gmail.com

Вторая половина двадцатого столетия в физиологии слуха характеризуется повышенным интересом к нейронным механизмам обработки коммуникационных акустических сигналов. Традиционно исследователи сосредотачивали внимание на изучении принципов слухового кодирования ультразвуковых вокализаций, а потому акустическая структура этих высокочастотных сигналов изучена весьма подробно, особенно у акустически специализированных объектов – летучих мышей. В последнее десятилетие в качестве модели для изучения нейрофизиологических механизмов обработки сложных коммуникационных сигналов стали использовать низкочастотные гармонические крики, сведения о которых в литературе весьма отрывочны и не дают полного представления об акустических характеристиках и смысловой нагрузке этих сигналов.

Одним из традиционных объектов нейрофизиологических исследований слуха является домовая мышь (*Mus musculus*). Поскольку акустические характеристики и поведенческая значимость низкочастотных гармонических коммуникационных сигналов у домашних мышей исследованы фрагментарно, а вокализации мышей подвержены изменениям в зависимости от их видовой и линейной принадлежности, в настоящей работе впервые выполнен сравнительный спектрально-временной анализ акустической структуры крика дискомфорта мышат «wriggling call», крика подчиненного самца при агонистическом поведении и оборонительного крика самки домашних мышей – гибридов линий СВА и С57BL6. Обсуждается изменение акустической структуры низкочастотных гармонических вокализаций мышей в онтогенезе и ее взаимосвязь со смысловой нагрузкой сигналов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-05234).

СОЗДАНИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИСПРАВЛЕНИЯ МУТАЦИИ *DI* В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ КРЫС ЛИНИИ *BRATTLEBORO*

Маланханова Т.Б.^{1,2,3}, Немудрый А.А.^{2,3}, Васькова Е.А.^{2,3}, Медведев С.П.^{2,3}

¹ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет; ²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН; ³ФГБУ Новосибирский научно-исследовательский институт кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск, Россия

tbmalankhanova@gmail.com

Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) является большим прорывом в клеточной биологии и регенеративной медицине. В настоящее время общепризнано, что ИПСК человека служат чрезвычайно информативной моделью различных наследственных заболеваний и могут быть использованы в регенеративной медицине, при тестировании, исследовании механизмов действия новых лекарственных препаратов. Возможность исправить мутацию в ИПСК и далее трансплантировать клетки с исправленным генотипом в поврежденные органы делает возможным лечение многих наследственных болезней. Используя инструменты геномной инженерии, возможно направленное и более эффективное внесение изменений в геном. Одним из таких инструментов является система CRISPR/Cas9, которая позволяет направленно вносить двуниевые разрывы в любом месте

генома. Систему CRISPR/Cas9 активно применяют на ИПСК для исправления мутаций. В качестве донорной последовательности для гомологичной рекомбинации используют одноцепочечные олигонуклеотиды. Это уменьшает вероятность нецелевой активности и позволяет получить клоны с целевой встройкой в один этап.

Но прежде чем применять ИПСК в клеточной терапии у человека, следует провести доклинические исследования на модельных животных. Крысы линии Brattleboro представляют собой уникальный объект для таких исследований. Эти крысы являются моделью несахарного гипоталамического диабета. Данное заболевание вызвано аутосомно-рецессивной мутацией *di* во втором экзоне гена *Avr*, который на 96% гомологичен второму экзону гена *Oxt*. Таким образом, целью данного исследования является изучить возможность исправления мутации, которая возникла в генах, имеющих гомологи в геноме, в клетках крыс этой линии с использованием системы CRISPR/Cas9.

Был проведен анализ нуклеотидной последовательности локуса *Avr* для выбора сайтов узнавания системы CRISPR/Cas9. Затем были созданы генетические конструкции на основе плазмидных векторов, экспрессирующих элементы системы CRISPR/Cas9, и экспериментально проверена эффективность и специфичность их работы.

ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ СТАНДАРТИЗОВАННЫХ ПОЛИУРОНОВЫХ КИСЛОТ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОСОВМЕСТИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ БИОИНЖЕНЕРИИ

Малькин Г.В., Швед Н.А., Кузнецов В.Д.

ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

grinch95vl@mail.ru

Производные полиуроновых кислот с различной степенью этерификации способны формировать гидрогели при физиологической температуре и концентрации ионов. Данные материалы являются перспективными средствами для адресной доставки лекарств и клеточных препаратов, а также могут применяться для создания матричных сред для культивирования стволовых клеток.

Были получены стандартизованные препараты производных полиуроновых кислот с различной степенью этерификации, разработан оптимальный состав инициатора гелеобразования для создания оригинальных матричных материалов, проявляющих различные свойства. Возможность использования полученных препаратов со степенью этерификации 0, 10, 30, 40, 50% для биофармацевтических и клеточных технологий исследовали на культурах нейтральных стволовых клеток и культуре клеток глиомы С6 крысы.

Нейральные стволовые клетки культивировали на матричных композициях, содержащих производные полиуроновых кислот с различной степенью этерификации. Было показано, что культивирование стволовых клеток на поверхности полученных гидрогелей существенным образом предотвращает спонтанную дифференцировку клеток даже в условиях с низкой концентрацией ростовых факторов, сохраняя клетки жизнеспособными длительный период. Выявлены материалы, наиболее эффективно подавляющие дифференцировку при сохранении высокого уровня пролиферативной активности и жизнеспособности клеток, что может представлять существенный интерес для производства стволовых клеток для нужд регенеративной медицины.

В системах трехмерного культивирования клеток с применением методов высокоэффективной автоматизированной микроскопии (*high content imaging*) выявлена зависимость миграционной способности клеток глиомы С6, нервных стволовых клеток и их потомков от физико-химических свойств полученных материалов. Возможность регулировать скорость миграции клеток внутри гидрогелей посредством их химической модификации может стать перспективным подходом для разработки систем адресной доставки клеточных и биофармацевтических препаратов. В условиях данных экспериментальных моделей были также выявлены некоторые типы материалов, поддерживающие формирование отростков клеток нервного ряда, что представляет интерес для разработки композиционных гидрогелей, включающих адгезионные и нейротрофические факторы, для реконструктивной терапии травм мозга и создания биоискусственных аналогов нервной ткани.

ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСПОРТА БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ЧЕРЕЗ МОНОСЛОЙ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ЛИНИИ EA.HY926

Мальцева О.Н.¹, Бородина Д.В.², Танянский Д.А.¹

¹ФГБНУ Институт экспериментальной медицины; ²ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

movolya@mail.ru

Ключевым событием атерогенеза является усиление транспорта липопротеинов из плазмы крови в интиму артерий эластического и мышечно-эластического типа. Механизмы данного феномена остаются не изученными. Одним из подходов к решению этой проблемы является оценка транспорта липопротеинов через эндотелиальный монослой в условиях *in vitro*. В связи с этим нами была поставлена задача разработать модель изучения трансэндотелиального транспорта липопротеинов. Поскольку в сосудистую стенку могут проникать не только липопротеины, но и различные белки плазмы крови, в качестве источника транспортируемых молекул мы использовали плазму крови человека.

Методика. Эндотелиоциты линии EA.hy926 высевали на пористые вставки к 24-луночному планшету (BD Falcon, № 353104), покрытые коллагеном 1-го типа, где клетки росли в течение 1-3 суток до формирования монослоя. Далее, во вставки (в верхнюю камеру) добавляли по 200 мкл бесцветной культуральной среды DMEM с 5 % человеческой сыворотки. В нижнюю камеру добавляли по 700 мкл той же среды, но без сыворотки. Инкубации проводили в течение 1, 2, 14, 24 часов. В верхние камеры некоторых лунок добавляли стимулятор эндотелиальной проницаемости гистамин. В качестве отрицательного контроля использовали вставки, покрытые коллагеном, без эндотелия. В верхней и нижней камерах определяли концентрации общего белка (BCA метод), аполипипопротеинов (апо) А-1 и В, иммуноглобулина IgM (иммуноферментным методом). Трансэндотелиальный транспорт белка рассчитывали по процентному отношению количества белка в нижней камере к количеству добавленного белка сыворотки.

Результаты. Трансэндотелиальный перенос апо А-1 через 1, 2, 12, 14 часов составлял, соответственно, 5, 7, 14, 12 %, и был ниже, чем транспорт в отсутствие эндотелия (15–16 %). Транспорт апо В для тех же временных инкубаций составлял 6, 10, 16, 17 % (в отсутствие эндотелия 18–28 %), иммуноглобулина IgM – 5, 6, 12, 12 % (в отсутствие эндотелия 16–29 %). Трансэндотелиальный перенос тотального белка сыворотки в нижнюю камеру через 2 часа составлял 5% (в отсутствие эндотелия 17%), а добавление гистамина приводило к 2-кратному увеличению транспорта через эндотелий.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о сохранности барьерной функции эндотелиального монослоя на культивируемых вставках с коллагеном. Данная модель позволяет оценивать влияние различных агентов на трансэндотелиальный транспорт белков и липопротеинов.

СВЯЗЬ УРОВНЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

**Мартынова Е.В., Хайбуллина С.Ф., Анохин В.А., Шайхиева Г.С.,
Валиуллина А.Х., Ризванов А.А.**

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, НОЦ
фармацевтики, отдел генных и клеточных технологий OpenLab, Казань, Россия

martynova85@gmail.com

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – зоонозное заболевание, характеризующееся острым началом, лихорадкой, недомоганием, геморрагическими проявлениями и дисфункцией со стороны почек. У больных характерна гиперпродукция воспалительных цитокинов, которая носит название «цитокиновый шторм». Это может играть

основную роль в патогенезе заболевания. В настоящее время поддерживающая терапия остается единственным эффективным методом лечения у больных ГЛПС.

Материалы и методы. Двадцать девять больных (24 мужчины и 5 женщин), были госпитализированы в Республиканскую Клиническую Инфекционную Больницу, г. Казани диагнозом ГЛПС. Здоровый контроль составил 12 человек. В стерильных условиях квалифицированным медицинским персоналом была собрана кровь от здорового контроля и больных ГЛПС. Сыворотка была разаликовочена по 100 мл и хранилась при -80°C . От больных ГЛПС сыворотку собирали 2 два периода заболевания, при поступлении и в день выписки. При помощи аппарата Luminex platform (luminex, Austin TX), используя Singleplex cytokine kit (Bio-Rad, Hercules, CA) в сыворотке крови были исследованы уровни ИНФ- γ , ИЛ-1 β , ИЛ-2, CXCL8 (ИЛ-8), ИЛ-10, ИЛ-12 (p70) и CCL2 (MCP-1).

Результаты. Было показано, что уровни ИЛ-2 и ИЛ-12 (p70) в лихорадочной стадии заболевания значительно снизились, в то время как уровни ИЛ-10 и CCL2 были увеличены. В олигурической фазе заболевания, уровни ИЛ-2 и ИЛ-12 (p70) значительно снизились, а уровни ИЛ-10 и CCL2 были на том же уровне. Кроме того, уровни ИЛ-1 β Было обнаружено, что подавляется, в то время как уровни CXCL8 были незначительно увеличили по сравнению с контролем. В период выздоровления, были значительно увеличены уровни сывороточного ИНФ- γ , ИЛ-10 и CCL2, в то время как сывороточные уровни ИЛ-1 β и ИЛ-12 (p70) были снижены. Наши данные показывают, что сывороточные уровни интерферона (ИНФ) - γ , интерлейкин ИЛ -10, CCL2 и ИЛ-12 активируются у больных ГЛПС по сравнению со здоровым контролем. Уровень этих цитокинов зависит от фазы и степени тяжести заболевания. Кроме того, мы наблюдали связь между легкой формой заболевания и повышенным уровнем ИНФ- γ и ИЛ-12 в сыворотке крови.

ВНУТРИКЛЕТОЧНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ РОЛИ K^+ , Ca^+ И Na^+ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАНАЛОВ В ФОРМИРОВАНИИ ПЕЙСМЕКЕРНОЙ ОСЦИЛЛЯТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ

Маруткина Е.А., Сухов А.Г., Орлов В.И.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Ростов-на-Дону, Россия

r-dance@mail.ru

Наличие эндогенного пейсмерного потенциала характеризует нейрон как активный элемент в формировании общей ритмической активности нервной системы, что делает актуальным исследование механизмов функционирования пейсмеркера и взаимодействия различных локусов генерации пейсмеркерной активности.

Целью проведенной нами работы являлось исследование роли потенциал-зависимых ионных каналов (K^+ , Ca^+ , Na^+) в формировании пейсмеркерной осцилляторной активности нейронов ЦНС виноградной улитки *Helix pomatia*, а также исследование взаимодействия локусов генерации, расположенных на разном удалении друг от друга. Объектом исследования были выбраны крупные идентифицированные нейроны париетальных ганглиев изолированной ЦНС виноградной улитки, расположенной в специально разработанной экспериментальной камере; жизнедеятельность системы поддерживалась с помощью проточной подачи усовершенствованного раствора Рингера для холоднокровных; внутриклеточное исследование проводилось с помощью стеклянных микроэлектродов с диаметром кончика 0,1-0,3 мкм.

О расположении локусов генерации пейсмеркерной активности позволяет судить регистрируемый сигнал. Так, импульсы с максимальной амплитудой и частотой генерировались локусами, расположенными в непосредственной близости к месту проникновения микроэлектрода в сому клетки; по мере удаления локуса регистрируемая амплитуда импульса и частота генерации уменьшается. Генерируемая активность от наиболее удаленных локусов наблюдается как ритмичные волновые флуктуации мембранного потенциала с амплитудой не более 1 мV. Вместе с тем, на восходящей фазе пейсмеркерных волн происходила активация потенциал-зависимых натриевых каналов и, соответственно, генерация спайков. При этом количество импульсов и пачек импульсов напрямую зависело от

длительности и уровня деполяризации на восходящей фазе волны. Генерация же низкоамплитудных калиевых и кальциевых импульсов наблюдалась независимо от наличия пейсмекерных волн.

Таким образом, наши экспериментальные данные позволяют утверждать, что функционирование калиевых и кальциевых потенциал-зависимых каналов является генетически обусловленным и обязательным условием эндогенной осцилляторной активности. Активность натриевых потенциал-зависимых каналов полностью регулируется деятельностью калиевых и кальциевых ионных каналов.

РОЛЬ ШАПЕРОНОВ HDJ1, HDJ2 И HSP70 В РОСТЕ И МЕТАСТАЗИРОВАНИИ МОДЕЛЬНОЙ КРЫСИНОЙ ГЛИОМЫ

Мешалкина Д.А., Шевцов М.А., Маргулис Б.А., Гужова И.В.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

postoronniW@yandex.ru

Молекулярные шапероны являются важным звеном в защите клеток от неблагоприятных факторов и поэтому играют важную роль в росте и развитии опухолей. Многократно доказана их роль в пролиферации клеток, предотвращении апоптоза, противоопухолевом иммунном ответе. Например, в литературе показано, что экспрессия Hsp70 играет защитную роль, а падение экспрессии Hdj2 в ходе развития опухоли является фактором плохого прогноза.

Особенно важно исследовать шаперон-опосредованную регуляцию для особо агрессивных опухолей, ярким примером которых являются глиомы (медианная выживаемость без лечения составляет 4,5 мес, а со стандартной радио- и химиотерапией – 15 мес). Для работы с ними была использована крысиная модель, основанная на интракраниальном введении клеток С6 в мозг крыс Wistar.

Мы получили три линии клеток С6 с подавленной с помощью РНК-интерференции экспрессией шаперонов Hdj1 (на 96 %), Hdj2 (на 52%) и Hsp70 (на 83%) соответственно. Для клеток С6 shHdj2 была характерна скруглённая морфология без образования монослоя и с большим количеством ведущих краёв в культуре. Скорость роста культур С6 shHdj1 и С6 shHdj2 не отличалась от культур клеток дикого типа, а скорость роста С6 shHsp70 была несколько ниже. Клетки shHdj1 во всех проведённых тестах были сходны с клетками дикого типа. Клетки С6 shHdj2 показали значительно большую активность в тестах зарастания царапины, образования колоний, миграции через мембрану с порами 8 мкм, но сниженную в тесте адгезии к различным типам внеклеточного матрикса. Клетки С6 shHsp70 показали напротив, более сильную способность к адгезии и меньшую – к зарастанию царапины и образованию колоний. Подавление экспрессии Hdj2 сопровождалось изменениями в экспрессии маркеров стволовости (повышение экспрессии CD133 в 11,8 раз) и эпителиально-мезенхимального перехода (повышение экспрессии N-кадгерина в 3,2 раза).

Для оценки роста опухолей *in vivo* клетки С6 четырёх линий вводили крысам по 10⁵ в третий желудочек мозга. По сравнению с контрольными С6 (25.4±3.9 дней) и С6 shHdj1 (25.5±3.8 дней) в группе С6 shHdj2 было отмечено падение выживаемости в 1,5 раза (16.8±3.5 дней) (P<0.05). В группе С6 shHsp70 выживаемость напротив повысилась до 42.5±12.0 дней (что полностью объяснимо, учитывая сниженную скорость роста этой клеточной линии). Опухоли, образованные С6 shHdj2 имели диффузный край и множественные очаги локализации, хотя для остальных был характерен чётко различимый край и локализация в месте введения.

Таким образом, мы показали, что снижение экспрессии Hdj2 вызывает повышение способности опухолевых клеток к образованию вторичных опухолевых очагов.

ЧАСТОТНО-ЗАВИСИМЫЕ ЭФФЕКТЫ АКУСТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА УРОВНЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО КРОВОТОКА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Миляев Е.В., Красников Г.В.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет
им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия

gvkrasnikov@gmail.com

Цель работы – исследование влияния акустической стимуляции на колебания микроциркуляторного кровотока кожи у человека. Исследование проведено в группе из 10 практически здоровых студентов обоего пола 18-22-летнего возраста на условиях добровольного информированного согласия. В ходе эксперимента методом лазерной доплеровской флоуметрии (двухканальный флоуметр ЛАКК-02 (ЛАЗМА, Россия)) осуществляли регистрацию уровня микроциркуляторного кровотока кожи. Зонды флоуметра располагали на левой руке в зонах с различной плотностью симпатической сосудистой иннервации: на ладонной поверхности ногтевой фаланги пальца и наружной поверхности предплечья вблизи лучезапястного сустава. Акустическую стимуляцию осуществляли через наушники низкоинтенсивным (~20 дБ) амплитудно-модулированным белым шумом, с частотами модуляции 0.02, 0.04, 0.1 и 0.3 Гц. Условием данного эксперимента являлся произвольный контроль ритма модуляции испытуемыми посредством фиксации моментов наибольшей интенсивности шума нажатием кнопки компьютерной мыши правой рукой. Анализ сигналов выполняли на основе амплитудно-частотных спектров, полученных посредством непрерывного адаптивного вейвлет-преобразования.

Влияние акустической стимуляции проявлялось в изменении амплитуды колебаний кровотока кожи на частотах, соответствующих частоте модуляции шума. Для кровотока кожи предплечья, по сравнению с нативным состоянием, показано достоверное увеличение амплитуды колебаний кровотока в условиях стимуляции с частотой 0.02 и 0.04 Гц (в 1.9 и 1.4 раза соответственно). Для кровотока кожи пальца достоверный эффект был выявлен для всех используемых частот стимуляции. При частоте модуляции 0.02, 0.04 и 0.1 Гц увеличение амплитуды спектра составило 1.9, 2.4 и 1.8 раза соответственно. При стимуляции с частотой 0.3 Гц амплитуда колебаний кровотока, напротив, достоверно снижалась до 80% от нативного уровня.

Таким образом, эффекты воздействия низкоинтенсивного амплитудно-модулированного белого шума носят частотно-зависимый характер и предположительно обусловлены механизмами резонансного взаимодействия вызванных колебаний активности отделов вегетативной нервной системы и собственных внутрисистемных колебаний микроциркуляторного кровотока кожи.

СЕРОВОДОРОД УГНЕТАЕТ ВЫЗВАННЫЕ НМДА-ТОКИ ПИРАМИДАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ

Минькина Е.А., Тимонина А.А., Яковлев А.В.

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

earwind@yandex.ru

На ранних этапах развития мозга вся сетевая активность головного мозга имеет эндогенное происхождение. В неонатальном гиппокампе это выражается в генерации так называемых гигантских деполяризующих потенциалов (ГДП), в которой важную роль играют глутаматергические и ГАМКергические входы нейронов. В первую неделю постнатального развития мозга в нейронах гиппокампа обнаруживается высокая концентрация H₂S и высокий уровень экспрессии фермента синтеза H₂S - цистатионин-β-синтазы (CBS). Высокое содержание H₂S и активность фермента необходимы для созревания и роста нейрональных сетей. Исследовалось влияние H₂S на вызванные синаптические токи пирамидных нейронов CA3 области гиппокампа при помощи патч-кламп регистрации в конфигурации «целая клетка – фиксация напряжения».

Эксперименты проводились на горизонтальных срезах мозга крыс P4-P6 (день рождения - P0) с соблюдением всех биоэтических норм. Рецептор-опосредованные токи вызывались

аппликацией через микропипетку (давление 5-20psi, длительность аппликации – 100мс,) следующих веществ: 1мМ глутамата для АМПА-рецепторов, 50мкМ НМДА и 50мкМ глицина для НМДА-рецепторов, 100 мкМ ГАМК для ГАМКА-рецепторов. После записи контроля производилась аппликация 100мкМ Na₂S и далее регистрировались вызванные токи на фоне вещества.

Добавление донора H₂S - Na₂S при потенциале фиксации -60мВ в присутствии блокаторов ГАМКА, ГАМКБ, АМПА-рецепторов оказывала необратимый ингибирующий эффект на амплитуду и время нарастания НМДА-вызванного синаптического тока нейрональной клетки у новорожденного крысенка в СА3 области гиппокампа. В отличие от этого, аппликация Na₂S не оказывает достоверного влияния на синаптические токи, опосредованные активацией АМПА- и ГАМК (А)-рецепторов вызванные инъекцией глутамата (в присутствии блокаторов ГАМКА, ГАМКБ, НМДА-рецепторов) и ГАМК (в присутствии блокаторов ГАМКБ, НМДА- и АМПА-рецепторов), соответственно, в первую постнатальную неделю развития мозга крысенка.

Таким образом, можно предположить, что эффекты сероводорода на сетевую активность опосредованы изменением активности НМДА-рецепторов принципиальных нейронов в СА3 области гиппокампа за счет химической модификацией белковых субъединиц рецепторов (восстановление двойных связей или сульфидрация).

Работа была поддержана грантом РФ № 14-15-00618.

АНАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ СИГНАЛЬНОЙ ТРАНСДУКЦИИ И СИНТЕЗ БЕЛКА В ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЕ КРЫСЫ НА РАННИХ СРОКАХ МОДЕЛИРУЕМОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Мирзоев Т.М., Тыганов С.А.

ФГБУН ГНЦ РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

tmirzoev@yandex.ru

Цель исследования состояла в выявлении эффектов различных сроков гравитационной разгрузки на ключевые анаболические маркеры и синтез белка в постуральной камбаловидной мышце крысы.

Гравитационную разгрузку моделировали путем антиортостатического вывешивания грызунов. В эксперименте использовались самцы крыс Вистар массой 190-210г., которые были случайным образом разделены на следующие группы: 1) «Контроль» (n=7), 2) «1HS» (n=7) – 1-суточное антиортостатическое вывешивание, 3) «3HS» (n=7) – 3-суточное вывешивание, 4) «7HS» (n=7) – 7-суточное вывешивание. Все процедуры с животными были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Содержание ключевых анаболических маркеров (p-AKT, p-GSK-3beta, eIF2B, p-p70s6k, p-4E-BP1, p-90RSK1) определяли методом гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом. Интенсивность синтеза белка в m. soleus оценивалась с помощью метода пурамицинового мечения - SUnSET. Функциональная разгрузка в течение 24 часов привела к достоверному (p<0,05) снижению содержания p-4E-BP1 и увеличению содержания p-p70s6k в камбаловидной мышце. К 3-м суткам вывешивания наблюдалось снижение содержания таких маркеров, как p-AKT и p-90RSK1 (p<0,05). После 7 суток гравитационной разгрузки произошло достоверное (p<0,05) снижение уровня фосфорилирования AKT и GSK-3beta относительно контрольной группы. Интенсивность синтеза белка после 7-суточного вывешивания также оказалась сниженной относительно контрольного уровня.

Таким образом, полученные результаты позволили оценить вклад различных сигнальных механизмов, принимающих участие в регуляции синтеза белка в постуральной мышце крысы на ранних сроках моделируемой микрогравитации.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 14-04-31414.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА В РАЗЛИЧНЫХ ОБОЛОЧКАХ И КОМПЛЕКСА НАНОЧАСТИЦ С ДОКСОРУБИЦИНОМ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Миронова Е.А.¹, Давыдова Г.А.¹, Семкина А.С.², Абакумов М.А.²

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино;

²ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

mironova_e27@rambler.ru

Наночастицы (НЧ) оксида железа обладают потенциалом использования в биомедицине для контрастирования тканей в магниторезонансной томографии, гипертермии метастаз, адресной доставки лекарств. Использование комплексов НЧ с противоопухолевыми лекарственными препаратами позволит проводить одновременно и диагностику, и лечение заболевания.

Наночастицы магнетита получали термическим разложением ацетилацетона железа в бензиловом спирте и покрывали оболочками из молекул бычьего сывороточного альбумина (БСА) и оболочками из БСА и полиэтиленгликоля (ПЭГ). Гидродинамический диаметр НЧ, покрытых БСА, составил 85 ± 10 нм и 36 ± 4 нм, НЧ в оболочке из БСА и ПЭГ - 41 ± 5 нм. Методами динамического светорассеивания, измеряя гидродинамический диаметр и индекс полидисперсности НЧ, было определено, что оптимальная концентрация загрузки доксорубина на поверхность НЧ, покрытых оболочкой из БСА и ПЭГ составляет 7,6%. Изменение спектра поглощения и динамики флуоресценции доксорубина при добавлении НЧ свидетельствует об образовании стабильного комплекса.

Цитотоксичность наночастиц магнетита и комплекса НЧ с доксорубином исследовали трех типах клеток: на фибробластах человека – HF, клетках человеческой злокачественной глиобластомы - U251 и эпителиальных клетках эпидермоидной карциномы гортани – Her-2. Использовали методы дифференцированного флуоресцентного окрашивания живых и мертвых клеток и подсчета количества клеток на приборе CloneSelect Imager.

Установлено, что НЧ в оболочке из БСА размером 40 нм вызывают полную гибель клеток U251, Her-2 в концентрации 10^{-3} М и клеток HF - в концентрациях 10^{-3} - 10^{-4} М.

НЧ Fe_3O_4 в оболочке из БСА размером 80 нм вызывают 100% гибель клеток в диапазоне концентраций от 10^{-3} до 10^{-5} М.

НЧ в оболочке из БСА-ПЭГ вызывают 100% гибель клеток в концентрации 10^{-3} М через 72 часа инкубации.

Растворы доксорубина и комплекса НЧ с доксорубином оказывают сходное цитотоксическое воздействие на клетки. Доксорубин и комплекс НЧ с доксорубином вызывают 100% гибель клеток Her-2 и U251 в концентрациях 10^{-3} - 10^{-4} М, а более чувствительных к воздействию HF - 10^{-3} - 10^{-5} М.

Исследование образования активных форм кислорода (АФК) в клетках, методом измерения интенсивности флуоресценции 2,7-дихлорфлуоресцеин, показало, что после инкубации с НЧ Fe_3O_4 в оболочках БСА-ПЭГ образуется меньшее количество АФК, чем при культивировании клеток в растворе НЧ оболочках из БСА.

Т.о. магнитные наночастицы в оболочках из БСА-ПЭГ менее токсичны, чем наночастицы, покрытые БСА.

КАЛЬЦИЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ПОЛЯ СА3 ГИППОКАМПА В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Митаева Я.И.¹, Можеров А.М.¹, Мухина И.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского;

²ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия,
Нижний Новгород, Россия

yasya13@mail.ru

Согласно современным представлениям минимальной функциональной единицей нервной системы является нейронная сеть, формирование которой происходит в неонатальный период постнатального онтогенеза. Именно на уровне нейронной сети происходят процессы консолидации памяти, обработки и передачи информации. Кроме нейронных сетей в мозге существуют и астроцитарные сети. Астроциты – электрически невозбудимые клетки, поэтому изучение их активности не возможно биоэлектрическими методами. Показано, что одним из показателей активности как нейронов, так и астроцитов являются Ca^{2+} -осцилляции. В данной работе было проведено исследование динамики спонтанных Ca^{2+} осцилляций клеток срезов гиппокампа крыс раннего (P5-8, P14-16) и позднего (P21-25) неонатальных периодов постнатального онтогенеза. Использование переживающих срезов мозга и функционального флуоресцентного имиджинга позволило регистрировать долговременные изменения внутриклеточного Ca^{2+} одновременно у нескольких клеток, в результате чего стало возможным оценить сетевую Ca^{2+} активность клеток СА3 поля гиппокампа.

В результате проведенных исследований было показано, что параметры Ca^{2+} осцилляций клеток СА3 поля срезов гиппокампа изменяются в зависимости от неонатального периода постнатального онтогенеза крыс. Уменьшение количества Ca^{2+} осцилляций с возрастом обусловлено формированием и усложнением синаптически связанных нейронных сетей, переходом электрических синапсов в химические. Переходным периодом является 14-16 день постнатального онтогенеза, а на 21 день - наблюдается полностью сформированная нейронная сеть. Электрически связанная сеть является малоконтролируемой, возбуждение свободно распространяется по сети, вовлекая в работу все клетки, что проявляется в высокой Ca^{2+} активности у клеток гиппокампа крыс младшей возрастной группы. В срезе гиппокампа мозга позднего неонатального периода постнатального онтогенеза спонтанная Ca^{2+} активность низкая с связи с отсутствием активной нейронной сети. В этом случае спонтанные Ca^{2+} осцилляции, были обусловлены в основном, метаболической активностью клеток. Таким образом, в результате проведенного исследования было показано, что изменения Ca^{2+} активности клеток поля СА3 гиппокампа крыс, происходящие в процессе неонатального периода постнатального онтогенеза, напрямую связаны с функционированием нейронных сетей и метаболическим состоянием клеток.

Работа поддержана стипендией Президента РФ (СП-1531.2015.4), частично поддержана грантом (соглашение от 27 августа 2013г. № 02.В.49.21.0003 между МОН РФ и ННГУ).

ХАРАКТЕРИСТИКА СВОБОДНОЙ ДНК, ОБНАРУЖЕННОЙ В ВЛАЗМЕ КРОВИ ДОНОРОВ РАЗЛИЧНОГО ПОЛА И ВОЗРАСТА

Митрошина И.Ю.¹, Митрошин И.А.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,

²ФГБУН Библиотека по естественным наукам РАН, Пушино, Россия

strelkova.ira@gmail.com

Свободная ДНК плазмы крови используется как инструмент мониторинга различных патологических состояний, в том числе онкологических. В норме у здоровых людей уровень свободной ДНК зависит от многих факторов и подвержен колебаниям в широком диапазоне.

В своей работе мы провели исследование свободной ДНК плазмы крови доноров различного пола и возраста.

Метод основан на количественной флуориметрической оценке количества ДНК, полученного из 500 мкл плазмы крови 4 групп доноров: молодых и пожилых мужчин и женщин. Также было проведено электрофоретическое разделение образцов ДНК, полученных из препаратов плазмы крови этих доноров.

Оценка различий между исследуемыми группами по U-критерию Уилкоксона ($P=0,01$) показала их достоверность при сравнении групп одного пола, но разного возраста. Большой разброс величин говорит об индивидуальности исследуемого параметра у каждого отдельного человека, что может быть обусловлено особенностями проживания, образа жизни и проч.

При сравнении групп одной возрастной категории, но разного пола с помощью U-критерию ($P=0,01$) было показано наличие различий только для группы мужчин и женщин молодого возраста. Для группы мужчин и женщин пожилого возраста отличий по уровням концентрации внеклеточной ДНК обнаружить не удалось. Вероятно, пожилой возраст нивелирует половые различия в процессах, вызывающих появление нуклеиновых кислот в крови.

При электрофоретическом разделении препаратов ДНК, полученных из образцов плазмы, был выявлен высокомолекулярный фрагмент ДНК размером около 21 т.п.о. Преимущественно данный фрагмент был обнаружен у доноров – мужчин обоих возрастных групп, хотя в группе женщин также присутствовал. Отличительной особенностью электрофоретического разделения свободной ДНК плазмы крови доноров - женщин стал препарат, представленный на электрофореграмме в виде апоптотической дорожки. Дальнейшие эксперименты, проведенные на других группах доноров (данные не представлены) подтвердили выявленную особенность.

Т.о., было выдвинуто предположение о биологической особенности нахождения свободной ДНК в плазме крови мужчин в виде высокомолекулярного фрагмента, тогда как в плазме крови женщин в более фрагментированном виде. Вероятные причины такого различия требуют дальнейшего выяснения, однако в качестве предположения может быть выдвинута гипотеза о повышенной активности ферментативных систем крови, ответственных за утилизацию свободной ДНК в крови женщин. Это может быть обусловлено повышенной нагрузкой на женский организм в процессе вынашивания потомства, т.к. известно, что ДНК плода активно секретируется в кровотоки матери.

СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ КОРОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ У САМОК ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Митяшова О.С.

ФГБНУ ВНИИ животноводства им. Л.К. Эрнста, Московская обл., Россия

mityashova_o@mail.ru

Как известно, плацента человека и животных является богатым источником биологически активных веществ, в том числе факторов роста, гормонов и иммуномодуляторов. Благодаря своим активным компонентам экстракт плаценты оказывает положительное влияние на эндокринную и иммунную системы, а также на процессы роста и регенерации различных тканей. Показано, что стимулирующее действие экстракта плаценты коров на рост волосяного покрова мышей связано с усилением экспрессии инсулиноподобного фактора роста-1, который, в свою очередь, является важным регулятором репродуктивной функции самок.

Поэтому в настоящей работе было исследовано влияние экстракта плаценты коров на рост и развитие женских репродуктивных органов на модели неполовозрелых крыс линии Вистар. Препарат получали при использовании определенных режимов СВЧ-излучения и временных параметров при экстрагировании. Экстракт из гомогенизированных тканей плаценты готовили при нескольких температурных режимах (40, 60, 80 и 100°C) и затем разбавляли в соотношениях 1:4, 1:3, 1:2 и 1:1. Полученные препараты вводили крысам (в каждой группе $n=5$) в дозе 1 мл. Через 72 часа крыс забивали и определяли вес матки и яичников. Введение экстракта плаценты коров неполовозрелым крысам приводило к возрастанию веса репродуктивных органов, причем эффект зависел от температуры экстрагирования и, в меньшей степени, от концентрации при разбавлении. Наибольшее увеличение веса матки и яичников наблюдали в случае выделения экстракта при температурах 60 и 80°C. В зависимости

от степени разведения экстракта вес матки у обработанных крыс достигал от $29,7 \pm 0,4$ до $32,7 \pm 0,4$ мг (60°C) и от $30,7 \pm 0,4$ до $32,2 \pm 0,3$ мг (80°C), тогда как в контрольной группе он составлял $25,9 \pm 0,5$ мг ($p < 0,001$). При этом вес яичников крыс возрастал ($p < 0,001$) с $8,5 \pm 0,2$ мг (контроль) до $11,2 \pm 0,3$ – $12,2 \pm 0,3$ мг (60°C , разбавление 1:4-1:1) и до $11,3 \pm 0,2$ – $11,4 \pm 0,2$ мг (80°C , разбавление 1:3-1:1). В то же время соотношение между весом яичников и общим весом репродуктивных органов было максимальным по сравнению с контролем ($27,1 \pm 0,2$ – $27,7 \pm 0,3\%$ против $24,7 \pm 0,2\%$, $p < 0,001$) при температуре экстрагирования плаценты 60°C и разбавлении экстракта 1:3-1:1.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что препарат плаценты коров, полученный при определенных режимах экстрагирования и разбавления, оказывает позитивное влияние на рост и развитие женских репродуктивных органов и может быть использован для стимуляции репродуктивной функции у самок млекопитающих.

АНАЛИЗ МУТАЦИЙ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОНКОУРОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПО ОСАДКУ МОЧИ

**Михайленко Д.С.^{1,2}, Жинжило Т.А.¹, Сафронова Н.Ю.¹, Перепечин Д.В.¹,
Григорьева М.В.¹, Сивков А.В.¹**

¹НИИ урологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А. Герцена Минздрава России, ²ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

genomicsequence@yandex.ru

Рак предстательной железы (РПЖ) и рак мочевого пузыря (РМП) относятся к наиболее частым онкоурологическим заболеваниям. Основной лабораторный метод диагностики РПЖ – определение уровня простатспецифического антигена (ПСА) в крови, однако его концентрация может быть повышена не только при РПЖ, но и при воспалении, гиперплазии или аденоме простаты. Чувствительность цитологического анализа мочи при РМП существенно ограничена на первой стадии заболевания. В связи с этим, актуален поиск новых маркеров для неинвазивной диагностики основных онкоурологических заболеваний. В последние годы описаны молекулярно-генетические изменения, которые характерны для РПЖ и РМП, и могут быть выявлены в осадке мочи.

Целью настоящей работы является комплексный анализ экспрессии генов *PCA3*, *TMPRSS2-ERG* и мутаций *FGFR3* в осадках мочи как потенциальных маркеров для неинвазивной диагностики. Исследовали 29 образцов осадка мочи, полученных от пациентов с РПЖ (10 образцов), аденомой/интраэпителиальной неоплазией – ПИН – (16 образцов) и воспалением (3 образца) простаты. Экспрессию генов *PCA3* и *TMPRSS2-ERG* определяли методом ПЦР в реальном времени с TaqMan-зондами относительно эндогенного (*GAPDH*) и тканеспецифического (*KLK3*) контролей. Гиперэкспрессия *PCA3* была характерна для РПЖ: диагностическая точность при пороговом значении $\Delta\text{Ct}(\text{PCA3-KLK3})$ равном 0,98 составила 84% для осадков мочи. Экспрессия химерного онкогена *TMPRSS2-ERG* выявлена в 50% РПЖ и 17% случаев ПИН. Методом ПЦР с последующим секвенированием 7 и 10 экзонов *FGFR3* исследовали 16 образцов осадков мочи от больных РМП, группу контроля составили 24 пациента с циститом и мочекаменной болезнью. В 31% случаев РМП выявлены миссенс-мутации: с.746С→G (p.S249C), с.1124А→G (p.Y375C), с.1144G→С (p.G382R) и 2 случая с.1156Т→С (p.F386L).

Таким образом, анализ экспрессии и мутаций генов *PCA3*, *TMPRSS2-ERG* и *FGFR3* может быть использован как компонент неинвазивной диагностики РПЖ и РМП по осадку мочи.

АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛХОЛИНЕСТЕРАЗЫ И БУТИРИЛХОЛИНЕСТЕРАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Морозова А.Ю., Милютин Ю.П.

ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта,
Санкт-Петербург, Россия

amor2703@gmail.com

В последнее десятилетие у детей наблюдается рост нервно-психических заболеваний, развитие которых связаны с патологиями в период эмбрионального развития. Наиболее высока частота неблагоприятных последствий у детей с синдромом задержки внутриутробного развития (ЗВУР), при которой плод развивается в условиях хронической гипоксии, от длительности которой зависит формирование центральной нервной системы (ЦНС) новорожденного. Кроме того, известно, что у этих детей затруднен процесс ранней постнатальной адаптации, а также может наблюдаться последующее отставание умственного развития. Одной из основных нейромедиаторных систем головного мозга является холинергическая система, которая непосредственно связана с такими важнейшими функциями, как обучение и память. В исследованиях, проведенных на животных было показано, что ацетилхолинэстераза (АХЭ) и бутирилхолинэстераза (БуХЭ), изменяют свою активность при пренатальной гипоксии, что позволяет использовать определение активности холинэстераз в сыворотке крови для оценки функционального состояния ЦНС у новорожденных детей. Имеющиеся в литературе сведения об активности АХЭ и БуХЭ в сыворотке крови новорожденных детей немногочисленны и противоречивы. В связи с этим в настоящей работе поставлена цель изучить активность АХЭ и БуХЭ в сыворотке крови доношенных новорожденных детей. Нами была определена активность холинергических ферментов в пуповинной крови, в венозной крови на 1е, 4-7е сутки. Полученные данные показывают, что активность АХЭ в пуповинной крови составляет $0,0017 \pm 0,0001$ нмоль АТХ/мг белка в мин, а активность БуХЭ $0,0600 \pm 0,0070$ нмоль БуТХ/мг белка в мин, что превышает активность АХЭ в 30 раз. На 1е сутки жизни новорожденных детей активность АХЭ составляет $0,0016 \pm 0,0001$, на 4-7е сутки $0,0030 \pm 0,0001$ нмоль АТХ/мг белка в мин, наблюдается незначительная тенденция увеличения активности к концу первой недели жизни здоровых детей, однако достоверные различия не выявлены. Аналогичные изменения наблюдаются и в активности БуХЭ, на 1е сутки активность данного фермента составляет $0,0690 \pm 0,0072$, а на 4-7е сутки $0,1052 \pm 0,0260$ нмоль БуТХ/мг белка в мин. На основании полученных данных об активности холинэстераз, можно предположить, что метаболизм ацетилхолина не изменяется в течении первой недели жизни здоровых новорожденных детей, а также говорить о необходимости дальнейших исследований данных показателей у детей с ЗВУР.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ И БИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ИМПЛАНТАТОВ ИЗ НИКЕЛИДА ТИТАНА С МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ПОКРЫТИЯМИ ПОВЕРХНОСТИ В ОПЫТАХ *IN VIVO*

Наеждин С.В., Зубарева Е.В., Афанасьев А.Ю., Шаповалова С.В.

ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

zubareva-e@yandex.ru

Целью работы явилась оценка биосовместимости и биорезистентности имплантатов из никелида титана с модифицированными покрытиями поверхности в опытах *in vivo*.

Исследование выполнено на 32 беспородных белых мышках-самцах массой 20-25 грамм. Животным, поделенным на 4 группы, инокулировали под кожу имплантаты: I – исходный никелид титана (*TiNi*); II – никелид титана, модифицированный титаном (*TiNi-Ti*); III – никелид титана, модифицированный наноразмерными алмазоподобными углеродными покрытиями (*TiNi-DLC*); IV – никелид титана, модифицированный наноразмерными алмазоподобными углеродными покрытиями, легированными азотом (*TiNi-DLC-N*). По истечении 14 дней имплантаты извлекали, исследовали на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) *Quanta 200 3D* в режиме низкого вакуума. Степень реакции на инокуляцию оценивали путем

исследования гистологических препаратов соединительных тканей зоны дефекта при помощи аппаратно-программного комплекса Видео-Тест-Размер (микроскоп *Axioplan plus* фирмы *Zeiss*). Участки соединительной ткани извлекали из зоны дефекта, фиксировали в 10 % растворе формалина, подвергали обезвоживанию в спиртах и исследовали на СЭМ *Quanta 200 3D* в режиме высокого вакуума с использованием приставки спектрального рентгеновского анализа *EDAX Genesis*. При помощи рентгенофлуоресцентного спектрометра *ARL Optim X* определяли содержание никеля в плазме крови экспериментальных животных. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

Установлено, что вокруг имплантатов сформировалась соединительнотканная капсула. Степень реакции ткани на инокуляцию образцов имплантатов *TiNi* и *TiNi-Ti* была умеренной – площадь зоны регенерации составила 8 мм², имплантатов *TiNi-DLC* и *TiNi-DLC-N* слабой – 6 мм². *TiNi*- и *TiNi-Ti*-имплантаты показали высокую биологическую активность – объем регенераторного процесса составил 70% площади области дефекта. Для имплантатов *TiNi-DLC* и *TiNi-DLC-N* данный показатель был равен 40%, что свидетельствует о биоинертности. Рентгеноспектральный микроанализ соединительной ткани экспериментальных групп животных не выявил наличие в ней никеля. В ходе рентгеновского спектрохимического анализа плазмы крови обнаружено, что в I и II группах среднее значение концентрации никеля составило по 0,01 мг/мл, в III группе – 0,008 мг/мл и IV группе – 0,007 мг/мл.

Таким образом, изученные *TiNi*-имплантаты являются биосовместимыми и биорезистентными. Нанесение на поверхность *TiNi*-имплантатов алмазоподобного углеродного покрытия позволяет снизить биоактивность материала.

ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННЫХ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК

Николаев В.Ю., Романова Е.Б., Маслова Е.А., Маслова К.Н.

ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

DarthTiger@yandex.ru

Оценка состояния живых организмов (на примере зеленых лягушек) позволяет получить большой объем биохимических, иммунологических и морфогенетических показателей, требующих определённого обобщения. Одним из способов такого обобщения является дискриминантный анализ, позволяющий на основе измерения различных показателей объекта классифицировать его, т.е. отнести к одной из нескольких групп (классов) оптимальным способом.

Целью настоящей работы являлось проведение оценки состояния популяций зеленых лягушек водоемов Нижегородской области по совокупности полученных иммунофизиологических и морфогенетических характеристик методом дискриминантного анализа.

Зеленые лягушки (100 особей) были собраны в пяти водоемах Нижегородской области, различного генетического типа и качественной характеристики. Дискриминантный анализ провели на основе показателей, определенных для каждой лягушки: величине флуктуирующей асимметрии, степени окисления белков сыворотки крови, уровня крупных и мелких иммунных комплексов, с расчетом индекса укрупнения, лейкоцитарного состава крови, с расчетом индекса сдвига лейкоцитов, и фагоцитарной активности лейкоцитарных клеток. По нашим данным, наибольший вклад в дискриминацию вносят переменные, характеризующие степень содержания окислительных модификаций белков, изменение лейкоцитарного состава крови и величину флуктуирующей асимметрии. Показано, что наблюдения (лягушки), принадлежащие одинаковым группам (озёрам), локализованы на графике в конкретных областях плоскости, при этом расстояния между центроидами выборок из естественных водоемов оказались намного меньше, чем между центроидами выборок из городских, бессточных искусственных водоемов. В целом по итогам исследования выявлены межозерные различия по степени корреляции комплекса иммуногематологических характеристик зелёных лягушек, обитающих в водоемах г. Нижнего Новгорода и Нижегородской области, с уровнем экологического благополучия данных мест обитания.

Таким образом, с помощью дискриминантного анализа на основе исследованных показателей установлено, что степень окислительной модификации белков и сдвиг лейкоцитарной формулы являются главными переменными, которые позволяют производить дискриминацию между различными группами. Проведена классификация и подтверждено разбиение выборок из популяций лягушек по совокупности показателей на отдельные категории, при этом более существенные различия иммунного статуса выявлены между выборками из загрязненных бессточных искусственных водоёмов, с одной стороны, и естественных водоёмов – с другой.

ИЗУЧЕНИЕ МАРКЕРОВ СТРЕСС-РЕАКЦИИ

Дубровский В.Н., Новокшопова С.А.

ФГБОУ ВПО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

novok.sv@mail.ru

Блокирование холинэстеразы служит основой для многих биохимических изменений в организме, которые имеют неоднозначный характер. В связи с чем, изучено влияние применения антихолинэстеразного препарата на выраженность косвенных маркеров стресс-реакции.

Исследования проводились на самцах белых крыс линии WISTAR массой 150-160г, в возрасте 10-12 недель, которые предварительно были разделены на три группы: контрольные животные, крысы, подвергнутые действию иммобилизационного стресса, а также животные, подвергнутые действию иммобилизационного стресса предварительно обработанные антихолинэстеразным препаратом из расчета 0,15 мг/кг массы тела животного.

Результаты показали, что содержание аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот в надпочечниках достоверно снижается относительно контроля как в опыте с животными, подвергнутыми действию иммобилизационного стресса, так и в опыте с животными, обработанными антихолинэстеразным препаратом. При этом уровень дегидроаскорбиновой кислоты у крыс, подвергнутых действию стресса и обработанных прозеринем, оказался выше по сравнению с таковым у животных, подвергнутых иммобилизационному стрессу.

Также нами показано увеличение числа эритроцитов в кровяном русле крыс под действием иммобилизационного стресса, что, исходя из литературных данных, может являться следствием выхода из депо старых форм клеток. Эти данные подтверждаются результатами, полученными при исследовании кислотной резистентности и диаметра эритроцитов.

При исследовании устойчивости эритроцитов к кислотному гемолизу показано, что клетки крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу и обработанных антихолинэстеразным препаратом, оказываются менее резистентными к действию кислоты, чем эритроциты крыс, подвергнутых стрессу без применения прозерина. Наибольшую устойчивость показали эритроциты контрольных животных.

Данные полученные при изучении диаметра эритроцитов согласуются с результатами исследования кислотной резистентности. Показано, что наибольший сдвиг кривой Прайс-Джонса относительно контроля в сторону увеличения числа микроцитов (влево) отмечен у животных, подвергнутых действию стресса и обработанных антихолинэстеразным препаратом, менее выраженный сдвиг кривой наблюдается у животных, подвергнутых иммобилизационному стрессу.

Таким образом, на основании полученных данных можно предположить, что использованный нами антихолинэстеразный препарат, скорее всего, приводит к развитию у опытных животных стрессовой реакции по гиперергическому типу.

ВЛИЯНИЕ ВАЗОАКТИВНОГО КОСМЕТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА «КАПИЛАР» НА ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КОЖИ

Осипова А.А.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет
им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия

conyata@mail.ru

Использование метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) является актуальным для объективной диагностики микроциркуляции кожи и оценки эффективности воздействия на нее вазоактивных косметических средств. В нашей работе для исследования регуляторных процессов в микроциркуляторном русле применен метод функциональных проб с воздействием крем-бальзама «Капилар» (производитель – ОАО «ДИОД»), усиливающего микроциркуляцию. В качестве испытуемых в исследовании приняли участие условно здоровые девушки 18-22-летнего возраста. Анализировали динамику изменения показателя микроциркуляции (ПМ) в ходе реакции и амплитудно-частотные характеристики ЛДФ-грамм.

В результате проведенного нами исследования установлено, что усредненная величина ПМ в опытах с «Капиларом» не изменяется по сравнению с контролем. При этом об увеличении подвижности эритроцитов свидетельствует рост СКО в 2 раза. Достоверные различия коэффициентов вариации от данных в контроле в динамике указывают на значительное усиление осцилляций кровотока под воздействием крем-бальзама. Амплитудно-частотный анализ ЛДФ-грамм демонстрирует достоверное изменение спектральных характеристик, обусловленное усилением влияния низкочастотных колебаний, которое связано с ростом активности вазомоторного механизма регуляции микроциркуляции при использовании крем-бальзама «Капилар». При этом роль ритмов пассивной модуляции кровотока в среднем по группе в ходе эксперимента не изменяется. Амплитуда колебаний в диапазоне миогенной активности при воздействии крем-бальзама увеличивается по сравнению с контролем в среднем за 5 недель эксперимента в 2,5 раза, при этом максимум амплитуд колебаний наблюдается на 3-4 неделях эксперимента. Изменение амплитуды колебаний в диапазоне нейрогенной активности в среднем характеризуется достоверным увеличением в 1,5 раза по сравнению с контролем с максимумом к концу первой недели эксперимента. Характер изменений амплитуд колебаний в диапазоне эндотелиальной активности достоверно увеличивается в среднем в 1,7 раза. Пик амплитуд колебаний в диапазоне эндотелиальной активности приходится на конец второй недели эксперимента.

В результате исследования нами выявлена высокая чувствительность параметров активных механизмов регуляции кровотока к действию крем-бальзама «Капилар». При этом наибольшие по амплитуде изменения параметров кровотока приходятся на 2-3-4 недели эксперимента. К концу 5 недели эксперимента наблюдается снижение амплитуд колебаний во всех исследуемых частотных диапазонах, что иллюстрирует процесс адаптации микроциркуляторного русла к указанному средству.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ГАЛЕКТИНУ-3 ОТКРОЮТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ МНОГИХ ОПАСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Павлова Е.В.

ФГБУН Институт биологического приборостроения РАН, Пушкино, Россия

epavlova@anterix.ru

Семейство галектинов включает в себя 15 членов β -галактозид-связывающих белков. Галектин-3 имеет молекулярную массу около 30кДа, и его главной функцией является строительство гликоконъюгатов. В норме галектин-3 присутствует в эпителии многих органов, и в структурах, участвующих в воспалении. Кроме того, галектин-3 участвует в развитии многих патологий, таких как различные виды рака, хроническая сердечная недостаточность, фиброз. Недавние исследования показали, что повышение уровня галектина-3 в периферической крови онкологических больных увеличивает риск возникновения метастазов. Также концентрация галектина-3 значительно возрастает при сердечной недостаточности.

Показано уменьшение фиброза печени у крыс, которые получали специфические ингибиторы галектина-3.

Проблему точной диагностики и, возможно, терапии этих заболеваний могут решить специфические антитела.

Основой нашей работы является технологическая платформа, «Молекулярная Эволюция In vivo - In vitro - In silico» (3I-ME). Использование этой платформы позволяет получать антитела с параметрами, в 100-1000 раз превышающими параметры антител, используемых в диагностических наборах сегодня. Основные этапы этой технологии включают в себя иммунизацию кроликов и выделение РНК, кодирующую переменные домены иммуноглобулинов. Это “in vivo” этап. Далее, на основе РНК строится библиотека фагового дисплея. Это этап “in vitro”. Все целевые Fab-фрагменты с использованием антигена выбираются из этой библиотеки. Далее оптимизируется аминокислотный состав переменной части отобранных антител. Это делается для увеличения аффинности и получения молекулы с низким фоновым связыванием. Мы считаем, что у нас есть возможность создать такие антитела к галектину-3, которые могут превзойти по свойствам антитела, существующие сегодня.

Даже самый точный маркер конкретного заболевания у разных людей может иметь широкую вариабельность значений. Это может зависеть от пола, возраста, и других особенностей пациента. Поэтому для постановки точного диагноза необходимо изучение сразу нескольких параметров. Мы считаем, что диагностические возможности галектина-3 могут оказаться незаменимыми в качестве дополнительного критерия для диагностики многих опасных заболеваний.

РЕОБАЗА НЕЙРОНА К ИМПУЛЬСУ КВАЗИ-СИНАПТИЧЕСКОЙ ПРОВОДИМОСТИ

Параскевов А.В.

ФГБУ НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия

avp.workbox@yandex.com

Получена реобазы точечного нейрона в модели Ходжкина-Хаксли, стимулируемого одиночным импульсом проводимости в виде альфа-функции. Показано, что по кривой реобазы, т.е. зависимости минимальной амплитуды стимулирующего импульса от его длительности, можно определить тип возбудимости нейрона (по Ходжкину). В частности, для нейронов первого типа ("интеграторов"), кривая реобазы - монотонно убывающая функция, близкая к гиперболе, а для нейронов второго типа ("резонаторов") кривая реобазы имеет локальный минимум, что делает нейроны второго типа избирательно реагирующими на сравнительно слабые стимулы. Теоретическое предсказание о взаимосвязи реобазы нейрона к одиночному импульсу проводимости и типа возбудимости нейрона допускает непосредственную экспериментальную проверку методом dynamic clamp.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОГО УРОВНЯ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ ТЕПЛОВОГО ШОКА 90 У САМОК МЫШЕЙ НА РАЗВИТИЕ ИХ ПОТОМСТВА В ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Перепеченова Н.А.^{1,2}, Клокова К.В.^{1,2}, Лобанов А.В.¹

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

Natka_1511@mail.ru

Белок теплового шока 90 (HSP90) - класс шаперонов, который необходим для фолдинга некоторых белков, участвующих в передаче сигналов внутрь клетки. HSP90 в большом количестве присутствует в цитозоле различных клеток как при нормальной, так и при повышенных температурах. HSP90 связывается с денатурированными белками и возвращает их

в нативное состояние. Нарушения работы Hsp90 дестабилизируют индивидуальное развитие животных, что приводит к разнообразным аномалиям и уродствам.

Целью нашей работы было изучение влияния высокого уровня антител к HSP90 у самок мышей на физическое развитие и формирование поведенческого фенотипа у их потомства в постнатальном периоде с 1-х по 21-е сутки.

Исследования проводились на линии мышей BALB/c. Половозрелые самки иммунизировались трехкратно белком HSP90 (50 мкг белка на одно животное) с интервалом в 10 дней, затем у мышей анализировалась сыворотка крови на уровень антител к HSP90. Последняя иммунизация проводилась через 30 дней после третьей. Затем самки ссаживались с самцами для получения пометов. У потомства изучалось физическое созревание и формирование поведения в течение гнездового периода. Анализ титра антител к HSP90 у потомства мышей проводился на 30 день постнатального развития. Контролем к исследуемым животным, рожденным от иммунизированных самок, были интактные мыши.

Трехкратная иммунизация вызывала повышение титра антител к HSP90 примерно в 40 раз. Уровень антител к HSP90 у потомства мышей превышал контрольные показатели в 16-26 раз.

Было установлено, что высокий уровень антител к HSP90 у самок мышей не влиял на выживаемость их пометов после рождения и не приводил к возникновению внешних уродств и аномалий развития потомства у мышей. По основному показателю физического развития – набор массы тела, подопытные мыши не отличались от контроля, но повышенный уровень антител к HSP90 у самок мышей приводил к задержкам в соматическом развитии и вызывал многочисленные нарушения в формировании поведения потомства в постнатальном периоде развития: отставания в развитии социального контакта с матерями, нарушения в формировании сенсомоторных координаций, снижение исследовательской активности и нарушения ориентации в пространстве.

Полученная модель может быть использована для дальнейшего изучения механизмов возникновения перинатальных нарушений развития, вызванных высоким уровнем антител к HSP90.

ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Перепечин Д.В.¹, Перепечина И.О.², Смирнова Д.В.²

¹Научно-исследовательский институт урологии им. Н.А. Лопаткина - филиал ФГБУ
Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А. Герцена;

²ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

medcraft@mail.ru

Актуальность. Клинические испытания регенеративных технологий, а также внедрение их в практику медицины требуют своевременной разработки соответствующего правового базиса. В настоящее время юридические аспекты регенеративной медицины изучены недостаточно, что делает необходимым проведение исследований в этой области.

Цель. Изучить правовые проблемы, с которыми связано использование регенеративных технологий в России. Провести анализ зарубежных правовых источников, регламентирующих деятельность в области регенеративной медицины за рубежом.

Материалы и методы. Проведен анализ правовых и этических проблем, с которыми связана деятельность в области регенеративной медицины. Изучены источники, имеющие отношение к правовому регулированию проблем регенеративной медицины в России и за рубежом.

Результаты. Изучение вопросов регенеративной медицины показывает, что ни одна из стран, внедряющих данные технологии, не избежала юридических и этических проблем, однако, в условиях национальных законодательств эти проблемы имеют свои особенности. В России вопрос о разработке соответствующих правовых актов стоит весьма остро, что связано с пробелами в правовом регулировании целого ряда аспектов, имеющих отношение к деятельности в данной сфере.

Выводы. Испытание и применение регенеративных медицинских технологий в практике требуют специального правового регулирования. Деятельность в данной области может быть вовлечена в сферу уголовного и гражданского судопроизводства. Проблемы регенеративной медицины требуют комплексного обсуждения. Ее правовой базис должен разрабатываться

юристами совместно с врачами, биологами и рядом других специалистов, связанных с данной сферой.

ЭКСПРЕССИЯ СУБЪЕДИНИЦЫ $\alpha 1$ ГАМКА РЕЦЕПТОРА В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ, ВЫЗВАННОЙ КАИНАТОМ

Першина Е.В.^{1,2}, Капралова М.В.¹, Архипов В.И.^{1,2}

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; ²ФГБОУ ВПО
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

pershina-ev@mail.ru

ГАМК_A рецепторы основного тормозного медиатора в мозге представляют собой пентамеры, в большинстве случаев состоящие из 2 α , 2 β и 1 γ (или 1 δ) субъединиц. Разные субъединичные составы этих рецепторов отличаются по физиологическим и фармакологическим свойствам. Связывание нейромедиатора ГАМК с рецептором происходит на границе между α и β субъединицами. Транскрипция гена $\alpha 1$ субъединицы (*GABRA1*) изменяется в зависимости от синаптической активности. В настоящей работе исследовали уровень экспрессии *GABRA1* в гиппокампе и фронтальной области коры крыс в условиях эксайтотоксического повреждения гиппокампа, а также при фармакологическом подавлении нейродегенерации, индуцированной каинатом.

Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар весом 180-200 г. Каинат вводили в дорсальный гиппокамп в субконвульсивной дозе (0,2мкг). Тотальную РНК выделяли из гомогенатов гиппокампа и фронтальной области коры. Уровень экспрессии генов определяли с помощью ПЦР в реальном времени. Для фармакологического подавления нейродегенерации применяли модуляторы метаболитных рецепторов глутамата МРЕР и LY354740. Наши предыдущие работы показали, что через 4 недели после каината наблюдалась гибель нейронов в полях СА1 и СА3 гиппокампа, а после фармакологического воздействия гибель нейронов в поле СА1 прекращалась (Arkhipov et al., *Neuroscience Letters*, 2014, V.570, 5–9). В настоящей работе получено, что через 4 недели после каината уровень мРНК $\alpha 1$ субъединицы снизился в гиппокампе и повысился во фронтальной области коры. При фармакологическом подавлении нейродегенерации уровень мРНК приблизился к норме как в гиппокампе, так и фронтальной коре. Известно, что в эпилептическом мозге существует реципрокная зависимость между экспрессией *GABRA1* и экспрессией *BDNF*. В нашей работе мы выявили такое же взаимоотношение уровней экспрессии в гиппокампе при его повреждении каинатом. Однако во фронтальной коре уровень экспрессии обоих генов был односторонне повышен (значимо повышен). При фармакологическом подавлении нейродегенерации экспрессия как *GABRA1*, так и *BDNF* достигли контрольного уровня в обеих структурах мозга. Исходя из полученных данных, мы полагаем, что экспрессия *GABRA1* вовлекается в компенсаторные механизмы, направленные на снижение эксайтотоксичности в мозге.

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕКАНИЯ НИТРИТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС НА ФОНЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫХ ИНФУЗИЙ ТИМОГЕНА

Петенкова А.А., Коваленко Р.И.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

nastia_85@list.ru

В современной медицине для профилактики и лечения вирусных инфекций используются различные иммуномодуляторы, в том числе и тимоген. Тимоген представляет собой синтетический дипептид из двух аминокислот глутамина и триптофана. Известно, что тимоген может активировать дифференцировку Т-лимфоцитов, восстанавливать соотношения иммунорегуляторных клеток и функциональную активность врожденного иммунитета. Механизмы влияния тимогена на метаболизм оксида азота (NO), играющего важную роль в защитных и повреждающих процессах, практически не изучены. Существует предположение, что при нитритной интоксикации в организме происходит угнетение Т-клеточного звена

иммунитета. Целью работы было проверить данное предположение и оценить показатели нитритной интоксикации при стимуляции иммунной системы тимогеном. Объектом исследования служили самцы крыс линии Вистар (180-220 г, n=24). Животным подкожно вводили нитрит натрия (NaNO_2 , 3 мг/100 г массы тела) или физиологический раствор. Части животных предварительно в течение 3 дней интраназально инфузирова­ли иммуностимулятор тимоген. Через 30 и 60 мин после инъекции крыс декапитировали, брали кровь и извлекали ткани сердца, головного мозга и печени. Для определения содержания нитритов (NO_2^-), нитратов NO_3^- и суммарных количеств нитритов и нитратов (NO_x) в плазме крови применяли колориметрический метод. О накоплении нейтрофилов в тканях судили по способности фермента миелопероксидазы (МПО) инициировать окисление пероксидом водорода о-дианизидина при длине волны 460 нм. Содержание ИЛ-10, ИНФ- γ и ФНО- α в плазме крови определяли с помощью иммуноферментных методов. Показано, что в ранние сроки интоксикации (через 30 мин после введения NaNO_2) на фоне высоких уровней NO_2^- , NO_3^- и ФНО- α в плазме крови наблюдается увеличение активности МПО в тканях головного мозга и сердца. В тканях печени активность МПО не изменялась. Кроме того, отмечено достоверное снижение концентрации ИНФ- γ в плазме. Через 60 мин после введения NaNO_2 концентрации NO_x в организме снижается. На фоне предварительных инфузий тимогена выявлено достоверное ускорение метаболизма NaNO_2 , снижение миграции нейтрофилов в ткани сердца и головного мозга с одновременным увеличением активности МПО в ткани печени. Обнаружено, что инфузии тимогена вызывают уменьшение содержания в крови цитокина ИЛ-10. В целом, NaNO_2 вызывает подавление Т-клеточного звена иммунитета, усиление миграции нейтрофилов ткани, а иммуномодулятор тимоген противодействует указанным изменениям.

РОЛЬ ФАКТОРА XIIIa И ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В КОНТРАКЦИИ СГУСТКА КРОВИ

Пешкова А.Д., Ложкин А.П.

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

alinapeshkova@list.ru

Контракция (ретракция) кровяного сгустка играет важную роль в реакциях гемостаза и тромбоза. Контракция представляет собой сжатие сгустка под действием сократительных белков тромбоцитов. Помимо тромбоцитов, контракция регулируется плазменными факторами свертывания крови. Например, фактор XIIIa, активация которого зависит от Ca^{2+} и который катализирует образование изопептидных связей в фибрине, меняя его эластичность. Цель данной работы – определить зависимость динамики и полноты контракции кровяного сгустка от концентрации ионов кальция и активности фактора XIIIa.

Метод изучения контракции основан на оптической регистрации изменений объема кровяного сгустка во времени с использованием прибора «Регистратор тромбодинамики» (ГемаКор, Москва). Венозную кровь здоровых доноров стабилизировали 3,2%-ным цитратом натрия в соотношении 9:1 по объему. Образование сгустка крови и его контракцию индуцировали добавлением CaCl_2 и тромбина.

Анализ зависимости контракции кровяного сгустка от концентрации ионов Ca^{2+} показали, что экзогенный Ca^{2+} не оказывает видимого влияния на процессы образования сгустка под действием тромбина. Однако, сгустки без добавления Ca^{2+} были менее стабильны и характеризовались частым (32%) «выпадением» эритроцитов из сгустка в процессе контракции. Рекальцификация крови добавлением 2-5 мМ CaCl_2 стабилизировала сгустки, но не оказывала существенного влияния на их сжатие. Концентрация ионов Ca^{2+} 10 мМ частично ингибировала процесс, что подтверждается значительным снижением средней скорости и степени контракции. Вероятно, что стабилизирующий эффект Ca^{2+} обусловлен активностью фактора XIIIa, образование которого из неактивного фактора XIII зависит от присутствия Ca^{2+} . Чтобы проверить это предположение, активность фактора XIIIa подавлялась добавлением его ингибиторов - цистамина и йодацетамида. Цистамин в концентрациях 0,5-2 мМ не влияет на образование сгустка, но достоверно снижает степень его контракции. Йодацетамид оказывал аналогичное влияние на динамику контракции кровяного сгустка, что проявилось в виде

существенного снижения средней скорости и полноты контракции сгустка, достоверного увеличения времени, за которое сгусток сжимается до $\frac{1}{4}$ от исходного размера.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,3 – ТРИАЗОЛОВ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК

Поздина В.А.¹, Улитко М.В.¹, Можерин Ю.Ю.², Калинина Т.А.², Глухарёва Т.А.²

¹Институт естественных наук, ²Химико-технологический институт,
ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России
Б.Н. Ельцина, Екатеринбург Россия

varya.pozdina@inbox.ru

Соединения ряда 1,2,3-триазола обладают интересными химическими, биологическими и техническими свойствами, что делает их перспективными для создания новых препаратов. Также производные 1,2,3-триазола могут проявлять цитотоксические свойства в отношении клеток животных и человека.

Традиционные методы исследования токсичности препаратов с применением систем *in vivo* требуют использования большого количества животных. Широкое применение в различных областях биомедицинских исследований находят альтернативные биомодели, одной из которых являются культуры клеток.

Целью данного исследования является определение цитотоксичности новых производных 1,2,3-триазола на клеточные культуры.

В работе использовали 5 веществ, синтезированных на кафедре технологии органического синтеза ХТИ УрФУ. Для исследования были использованы перевиваемые линии трансформированных клеток (глиома крысы 2211 и рабдомиосаркома человека) и нормальные фибробласты кожи человека и крысы.

Для культивирования клеток использовали среду Игла DMEM с глутамином (1%), содержащую 10% эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицин (50 мг/л). Клетки рассевали в 96-луночные планшеты в посевной дозе 2×10^5 кл/мл по 0,1 мл на лунку и культивировали в течение 24 часов при 37°C, в увлажненной атмосфере 5% CO₂, после чего в лунки добавляли по 10 мкл исследуемых веществ в конечной концентрации 10⁻³ М. Инкубацию клеток с веществами производили в течение 24 часов.

Выживаемость клеток определяли с помощью теста на захват нейтрального красного, основанного на способности жизнеспособных клеток поглощать и накапливать краситель в лизосомах. Оптическую плотность экстракта нейтрального красного регистрировали при 490 нм на планшетном сканере VICTOR X3 (PerkinElmer, США). Оценку результатов теста на захват нейтрального красного жизнеспособными клетками проводили путем сопоставления оптической плотности экстракта нейтрального красного в опытных и контрольных лунках, рассчитывая индекс цитотоксичности (IC).

Все исследованные производные 1,2,3-триазола оказывают цитотоксическое воздействие на нормальные фибробласты крысы и человека, часть веществ активна также и в отношении клеток глиомы крысы. Эффект воздействия зависит от типа клеточной культуры. Наиболее чувствительными являются нормальные фибробласты кожи человека, жизнеспособность которых снижается под воздействием всех тестируемых веществ. Наименьшую чувствительность проявили клетки глиомы крысы 2211. Культура рабдомиосаркомы оказалась не чувствительной к цитотоксическому действию изучаемых производных 1,2,3 – триазола.

ДЕЙСТВИЕ САЛЬВИФОЛИНА НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ДИАБЕТЕ

Позилев М.К.¹, Асраров М.И.¹, Эргашев Н.А.¹, Эшбакова К.А.²

¹Институт биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз, ²Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз, Ташкент, Узбекистан

matmurjon2281@mail.ru

Известно, дитерпеноид клероданового ряда - сальвифолин, выделенный из растений блошницы шалфейлистной *Pulicaria salviifolia* и *Pulicaria gnaphaloides* Boiss, обладает гипогликемическим эффектом, улучшает метаболические процессы организма при экспериментальном диабете. Цель работы - исследовать действие сальвифолина на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс при экспериментальном сахарном диабете, вызванном стрептозотоцином. Эксперименты проведены на беспородных белых крысах. Животных разделили на 3 группы: I группа - интактная, II группа - животные с стрептозотоцин-индуцированным диабетом и III группа – животные с стрептозотоцин-индуцированным + сальвифолин (внутрибрюшенно в дозе 3,3 мг на кг массы тела животных) в течение 8 суток, начиная с 12 дня после введения стрептозотоцина и достижения заданного уровня гипергликемии. Митохондрии печени крыс выделяли методом дифференциального центрифугирования через 11-12 дней после инъекции стрептозотоцина, когда уровень глюкозы в крови достигал 11 ммоль/л. Определение скорости дыхания митохондрий и величин коэффициентов дыхательного контроля (ДК) и АДФ/О проводили по Чансу. Опыты показали, что в условиях интоксикации стрептозотоцином лабораторных животных, скорость дыхания митохондрий печени крыс II группа в состоянии V3 увеличивается на 36,0% по сравнению с таковой митохондрий печени интактных животных. Также, по сравнению с контролем, скорость дыхания митохондрий в состоянии V4 увеличена на 77,2%. Полученные результаты указывают на активацию дыхания при окислении сукцината митохондриями печени крыс с стрептозотоцин-индуцированным диабетом в состояниях V3 и V4. При этом по отношению к показателям нормы снижаются коэффициенты ДК и АДФ/О на 23,6% и 36,0 % соответственно. По сравнению с экспериментальным диабетом (II группа), фармакотерапия сальвифолином (III группа) способствовала снижению дыхания митохондрий в обоих состояниях и показателей ДК и АДФ/О, что указывает о повышении сопряженности и эффективности процессов окисления и фосфорилирования. Таким образом, фармакотерапия сальвифолином корригирует нарушения энергетического метаболизма, вызванные экспериментальным диабетом.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МИТОХОНДРИЙ В ПОЧКЕ В НОРМЕ И ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ

Попков В.А., Плотников Е.Ю., Зоров Д.Б.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

popkov.vas@gmail.com

Митохондрии принимают участие не только в энергообеспечении клеток в норме, но также играют одну из основных ролей при развитии таких патологий как инсульт, инфаркт и острая почечная недостаточность. На текущий момент в научном сообществе активно развивается идея, что в пределах одного органа и ткани клетки могут отличаться по своей устойчивости к повреждающим воздействиям и протекание заболевания может зависеть и от соотношения популяций «здоровых» и «больных» митохондрий.

Целью данной работы была разработка метода количественной оценки гетерогенности популяции митохондрий в органе, а также оценка гетерогенности популяции митохондрий в почке в норме и при ишемии/реперфузии (И/Р).

Для изучения гетерогенности популяций митохондрий были проанализированы данные проточной цитофлуориметрии митохондрий из контрольных и перенесших И/Р почек, окрашенных зондом TMRE. Также с помощью конфокальной микроскопии были проанализированы переживающие срезы почек с тем же зондом.

Анализ конфокальных изображений срезов почек, выявил значительный разброс в интенсивности флуоресценции TMRE в почках, подвергшихся И/Р: на срезах контрольных почек все каналы имели одинаковый уровень трансмембранного потенциала митохондрий; после И/Р наблюдались как флуоресцирующие каналы, так и почти потухшие. Это выражалось в увеличении коэффициента вариации распределения значений флуоресценции на срезе, а также в уменьшении значений коэффициента эксцесса.

Анализ данных проточной цитофлуориметрии показал, что И/Р снижает среднюю интенсивность флуоресценции митохондрий, также приводя к увеличению коэффициента вариации интенсивности флуоресценции. Анализ бокового светорассеяния выявил существенный сдвиг его интенсивности в сторону низких значений после И/Р, что указывает на уменьшение неоднородности внутреннего содержимого митохондрий. Также наблюдалась прямая зависимость ($R=0,96$) между интенсивностью флуоресценции TMRE в митохондриях и их боковым светорассеянием. После И/Р во всех опытах наблюдалась четко дискриминируемая субпопуляция митохондрий с низкой интенсивностью флуоресценции TMRE и низкими значениями бокового светорассеяния.

Таким образом, мы показали, что митохондрии в одной ткани в разных клетках не однородны по своим энергетическим свойствам. Часть митохондрий оказывается более устойчивой к ишемическому повреждению, тогда как другие митохондрии при таком повреждающем воздействии сильно деэнергизуются. Очевидно, разнообразие митохондрий особенно заметно в критических условиях, тогда как в норме подобная гетерогенность почти не наблюдается. Поддержано грантом РФФИ 14-04-00300

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Попов А.Л., Попова Н.Р., Селезнева И.И.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

antonpopovleonid@gmail.com

Окислительный стресс является общим узлом между причиной и следствием многих заболеваний. Новейшим подходом к коррекции состояния окислительного стресса в клетке (в том числе формируемого под действием излучений) является использование биосовместимых наноматериалов на основе диоксида церия (НДЦ). Последствия действия ионизирующего излучения на клетку и организм в целом имеют негативный прогноз, что обеспечивает необходимость разработки высокоэффективных радиопротекторов. Ранее были показаны некоторые аспекты радиозащитных свойства НДЦ, однако, механизмы их воздействия на внутриклеточные сигнальные пути, в том числе в условиях формирования адаптивного ответа (окислительного стресса) в настоящее время не вполне ясны. Немногочисленные публикации последних трех лет, в области исследования биологического действия НДЦ, подтверждают его воздействие на сигнальные пути в клетке [J.Colon, 2010, J.Niu, 2011, Z. Vujaskovic, 2013]. Полученные нами данные по анализу экспрессии индуцибельных ферментов (каталаза, глутатионредуктаза и глутатионпероксидаза) и цитокинов (интерлейкин 1, фактор некроза опухолей) в культуре первичных фибробластов мыши позволяют нам выдвинуть предположение о том, что НДЦ могут выступать не только как скавенджеры активных форм кислорода и свободных радикалов, но и модулировать функционирование метаболических путей клетки, вызывая формирование определенного адаптивного ответа. Наномолярная концентрация НДЦ способна формировать некоторый адаптивный ответ, путем активации некоторых транскрипционных факторов, в частности ассоциированных с кодируемой областью ARE (antioxidant response enzymes). Механизм, лежащий в основе данного явления, связан со способностью НДЦ образовывать единичные молекулы АФК (в частности перекиси водорода) за счет переменной валентности ионов (+3 и +4), находящихся на поверхности наночастицы. В свою очередь, перекись водорода способна выполнять регуляторную функцию на этапах внутриклеточной активации систем собственной защиты клетки, в условиях формирования состояния окислительного стресса, активируя антиоксидантную и репарационную систему

клетки, что приводит к снижению количества повреждений биомолекул при действии ионизирующего излучения. Данное соединение может рассматриваться как перспективный кандидат для создания на его основе радиопротекторов, которые могут найти широкое применение в клинической практике лечения онкозаболеваний.

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ НУКЛЕОТИДНОГО ПУЛА КЛЕТКИ НА БИОМАРКЕРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА IN VIVO

Попова Н.Р., Попов А.Л., Усачева А.М.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

micronelly@rambler.ru

Окислительно-восстановительный гомеостаз клетки является неотъемлемой частью нормального существования клетки и организма в целом. Результаты, полученные в нашем коллективе ранее, позволяют предполагать, что одной из систем, влияющих на развитие окислительного стресса и поддержании гомеостаза клетки, является нуклеотидный пул.

В данной работе исследовано влияние компонентов нуклеотидного пула клетки на биомаркер окислительного повреждения в тканях *in vivo* - уровень образования карбонильных групп в белках, поскольку белки и нуклеиновые кислоты могут улавливать от 50% до 75% свободно-радикальных соединений.

В качестве модели окислительного стресса использовано рентгеновское излучение, поскольку при таком воздействии зависимость образования активных форм кислорода от поглощенной дозы имеет линейный характер. Для определения уровня образования карбонильных групп в белках использовали метод определения степени окислительной модификации в белках сыворотки крови (Дубинина 2002) самцов мышей Kv:SHK.

Показано, что после воздействия радиации концентрация карбонильных групп в белке увеличилась приблизительно в 2,5 раза, от 1,05 (необлученный контроль) до 2,57 (облученный контроль). Внутривентрикулярное введение компонентов нуклеотидного пула клетки в диапазоне концентраций мышам приводит к уменьшению образования карбонильных соединений в белке на ~50% относительно облученного контроля.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ЛПС RHODOBACTER CAPSULATUS PG ОТ ИНДУЦИРОВАННОГО ЭНДОТОКСИНАМИ СИНТЕЗА ИНФ- γ

Серов Д.А.^{1,2,3}, Радзюкевич Я.В.^{3,4}, Зубова С.В.³, Кабанов Д.С.³, Прохоренко И.Р.³

¹ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, ²ФГБУН

Институт биофизики клетки РАН, ³ФГБУН Институт фундаментальных проблем

биологии РАН, Пушино; ⁴ФГБОУ ВПО Ярославский государственный университет

им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия

dmitriy_serov_91@mail.ru

Бактериальные эндотоксины или липополисахариды (ЛПС) – компоненты клеточной стенки грамотрицательных бактерий, являются мощными индукторами иммунного ответа человека. При тяжелой грамотрицательной бактериемии ЛПС поступает в кровь в количествах, приводящих к неконтролируемой активации синтеза провоспалительных цитокинов клетками врожденного иммунитета и индукции патологической воспалительной реакции – септического шока. Тяжелая грамотрицательная бактериемия вместе с синдромом сепсиса ассоциируются с высоким (30-50%) риском смерти даже при наличии адекватной терапии, поэтому одной из важных задач современной медицины является поиск эффективного способа предотвращения развития септического шока.

Ранее нами для ЛПС *Rhodobacter capsulatus* PG на дифференцированных 1,25-дигидроксивитамином D3 TNP-1 клетках и цельной крови человека была показана способность снижать секрецию раннего провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли- α (ФНО- α)

в ответ на эндотоксины *Escherichia coli* и *Salmonella enterica*. В настоящей работе была оценена способность ЛПС *Rb. capsulatus* снижать синтез цитокинов поздней фазы септического шока, на примере интерферона- γ (ИНФ- γ), в ответ на эндотоксины *E. coli* и *S. enterica*. В качестве моделей использовались клетки моноцитарной линии ТНР-1, дифференцированные 1,25-дигидроксивитамином D3, и цельная кровь здоровых добровольцев (n=6). Измерение концентрации ИНФ- γ осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением набора Human INF- γ ELISA КИТII (BD OptEIA) по методике производителя.

Предобработка дифференцированных ТНР-1 клеток ЛПС *Rb. capsulatus* вызывала достоверное снижение секреции ИНФ- γ в ответ на эндотоксины *E. coli* и *S. enterica* на (49 \pm 15)% и (66 \pm 20)% соответственно. Обработка ЛПС *Rb. capsulatus* клеток цельной крови человека *ex vivo* привела к снижению синтеза ИНФ- γ в ответ на ЛПС *E. coli* и *S. enterica* на (85 \pm 5)% и (89 \pm 4)%, соответственно. Из полученных данных следует, что ЛПС *Rb. capsulatus* проявляет защитный эффект против активации эндотоксинами синтеза ИНФ- γ не только клетками моноцитарной линии человека *in vitro*, но и клетками цельной крови человека *ex vivo*. Механизм защитного действия – конкурентное связывание антагониста с рецепторами к ЛПС (TLR4/MD-2, CD14, CD11b), препятствующее их связыванию с агонистом и снижению чувствительности клеток иммунной системы к эндотоксинам.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОЧАСТИЦ МЕДИ ПО ЭКСПРЕССИИ МАРКЁРОВ АПОПТОЗА

Сизова Е.А.^{1,2}, Лебедев С.В.¹

¹ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет; ²ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства, Оренбург, Россия

Sizova.L78@yandex.ru

В работе представлены результаты исследований биологических эффектов наночастиц меди при введении в организм животных на примере структурно-функциональной реорганизации основных органов-мишеней: печени, почек, селезенки, головного мозга, интенсивности проявления уровня апоптоза. Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Vistar массой 150-180 г, которым внутримышечно вводили водную суспензию наночастиц меди с периодичностью 1 раз в неделю в дозе 2.0 мг/кг массы животного. Отбор проб проводили через 3 час., 1 сут., 3 сут., 7 сут. после каждой инъекции. Для выявления готовности клеток к апоптозу оценивали экспрессию антигена каспазы-3. Иммуногистохимические исследования проводили на парафиновых срезах с использованием моноклональных антител и системы визуализации фирмы Bio Genex Super Sensytive Detection System (США) по протоколам фирмы производителя. Проводили подсчет иммунопозитивных клеток среди 1000 и выражали в %. При исследовании биологических эффектов наночастиц меди установлено, что наночастицы меди распределяются по органам и тканям животных, вызывая специфические для каждой ткани структурные изменения. Увеличение нагрузки наночастиц меди на организм вплоть до порогов токсического действия (МПД - максимально переносимой дозы) приводит к появлению признаков дистрофии и некроза тканей. Показано достоверное усиление экспрессии антигена каспазы-3 в микроглиоцитах коры головного мозга при дозе 2 мг/кг массы животного, в клетках печени при суммарной дозе - 6 мг/кг массы животного, в проксимальных канальцах почек при суммарной дозе - 6 мг/кг массы животного, в клетках селезенки при суммарной дозе - 24 мг/кг массы животного. Наночастицы меди в дозе 2 мг/кг проявляют нейротоксичность. Гепатотоксичность и нефротоксичность наночастиц меди проявляется в дозе 6 мг/кг. Клетки лимфоидных фолликулов селезенки повышают экспрессию антигена каспазы-3 в ответ на введение наночастиц меди в дозе 24 мг/кг, т.е. в дозе, близкой к ЛД₁₀₀. Полученные данные свидетельствуют о высокой биологической активности наночастиц меди и позволяют определить наночастицы меди модуляторами апоптоза в организме.

ОЦЕНКА НЕЙРОТОКСИЧНЫХ СВОЙСТВ ФУЛЛЕРЕНОЛОВ C60 И C70 НА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Слободина А.Д.², Слепнева Е.Э.², Большакова О.И.¹, Саранцева С.В.¹

¹ФГБУ НИЦ Курчатowski институт, Москва; ²ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, Гатчина, Россия

sashylikslobodina@mail.ru

Нейродегенеративные заболевания являются основной причиной деменции и различных двигательных расстройств. Это многофакторные болезни, одной из причин возникновения, которых, может служить окислительный стресс. На сегодняшний день не существует радикальных методов профилактики и лечения данных патологий. Следовательно, необходим поиск и разработка соединений, которые бы предотвращали негативные последствия окислительного стресса в мозге. К таким соединениям можно отнести фуллерены и их производные. Мощная антиоксидантная активность производных фуллеренов обусловлена способностью поглощать и дезактивировать кислородсодержащие свободные радикалы. Однако использование фуллеренов и их производных для создания нейрозащитных препаратов требует детального изучения их влияния на живые организмы и их взаимодействия с нервными клетками. Несмотря на многочисленные исследования, до сих пор остается открытым вопрос о токсичности фуллеренов и их производных. Основными факторами, которые обуславливают токсичность фуллеренов, как и их специфическую биологическую активность, являются их структура и размер, а также доза препарата. Токсичность фуллерена тесно связана с окислительным действием, которое может приводить к повреждению клеток. Основной целью настоящего исследования явилась оценка токсичности фуллеренолов C60 и C70 *in vivo* на моделях трех нейродегенеративных заболеваний: болезни Паркинсона, Хантингтона и Альцгеймера на *Drosophila melanogaster*. *Drosophila* представляет собой промежуточную модельную систему между простейшими одноклеточными организмами и модельными системами млекопитающих и в настоящее время широко используется во всем мире для первичного скрининга и тестирования различных лекарственных препаратов. В качестве критерия был выбран интегральный показатель жизнедеятельности животных – продолжительность жизни. Мух распределяли в пробирки по 30 штук в каждой. Фуллеренолы C60 и C70 добавляли в корм животным, который заменяли 3 раза в неделю. Одновременно вели подсчет умерших особей. Использовали 80 микролитров раствора фулеринола на пробирку в концентрациях 2,5; 0,5; 0,05 мг/мл. В качестве контроля использовали линию CantonS. В каждом эксперименте проанализировано не менее 300 мух. Эксперименты были повторены не менее 3 раз. Анализ кривых выживаемости показал, что все использованные дозы фуллеренолов не токсичны и не снизили продолжительность жизни *Drosophila* исследованных линий.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-99647.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТЕКАЛЬНОЙ И ГРАНУЛЕЗНОЙ ТКАНЕЙ В ПРОЦЕССЕ ПРОДУКЦИИ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ ПРЕОВУЛЯТОРНЫМИ ФОЛЛИКУЛАМИ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ

Смекалова А.А., Лебедева И.Ю.

ФГБНУ ВНИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл., Россия

araksiya@gmail.com

Стероидогенез структурных элементов фолликулов птиц характеризуется рядом особенностей, что было продемонстрировано на модели яичника домашней курицы. Клетки гранулезы кур не обладают ароматазной активностью и продуцируют только прогестерон, хотя у млекопитающих они являются основным источником эстрогенов. В то же время синтез андрогенов и эстрогенов у кур происходит соответственно во внутреннем и наружном слоях текальной ткани. У млекопитающих секреция эстрогенов и андрогенов возрастает в процессе развития доминантных фолликулов, тогда как способность клеток теки кур продуцировать эти гормоны значительно снижается на заключительных этапах созревания преовуляторных фолликулов. Продукция прогестерона клетками гранулезы кур, напротив, положительно связана со степенью созревания фолликулов. С целью изучения механизмов локального

контроля стероидогенеза в преовуляторных фолликулах домашней курицы нами было исследовано взаимное влияние фолликулярных тканей разного типа на продукцию овариальных стероидных гормонов *in vitro*. Гранулезную и текальную ткань выделяли у молодых кур из фолликулов двух категорий: F1 (самый большой желточный фолликул) и F2 (второй по размеру фолликул) и культивировали индивидуально или совместно в течение 18 ч. Концентрацию стероидных гормонов в культуральных средах определяли методом иммуноферментного анализа. При индивидуальном культивировании гранулезной ткани не было обнаружено различий в секреции прогестерона между фолликулами с разной степенью зрелости. Внесение текальной ткани в среду культивирования приводило к снижению продукции прогестерона в 3.4-4.1 раза ($p < 0.001$), при этом стероидогенная активность фолликула F1 была значительно больше, чем фолликула F2 (166.9 ± 24.3 против 128.1 ± 16.5 нг прогестерона на мг белка, $p < 0.05$). В отсутствие гранулезной ткани способность теки секретировать тестостерон была сходной для F1 и F2 фолликулов. При совместном культивировании фолликулярных тканей разного типа интенсивность продукции тестостерона клетками теки возрастала в 1.8-2.1 раза (по крайней мере $p < 0.05$). Кроме того, эта интенсивность была выше в случае текальной ткани из F2 фолликулов, чем из F1 фолликулов (1.39 ± 0.29 против 0.72 ± 0.13 нг на мг белка, $p < 0.01$). Таким образом, взаимодействие между текальной и гранулезной тканями вызывает снижение продукции прогестерона и повышение продукции тестостерона, а также обуславливает различия в стероидогенной активности между преовуляторными фолликулами с разной степенью зрелости.

НОВЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУНОТОКСИН НА ОСНОВЕ ПСЕВДОМОНАДНОГО ЭКЗОТОКСИНА А: ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ

Соколова Е.А.¹, Здобнова Т.А.¹, Стремовский О.А.², Балалаева И.В.¹, Деев С.М.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород; ²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

malehanova@mail.ru

В последние десятилетия большое внимание уделяется развитию принципиально нового подхода к лечению злокачественных новообразований – направленной (таргетной) терапии, предполагающей нацеленную доставку терапевтического агента различной природы к опухолевым клеткам. Перспективными агентами для таргетной противоопухолевой терапии представляются рекомбинантные иммунотоксины – бифункциональные белки, состоящие из направляющего и токсического модулей. Одной из хорошо известных мишеней для таргетной терапии опухолей является рецептор HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2). Гиперэкспрессия данного онкомаркера коррелирует с быстрым ростом и метастазированием опухоли, а также устойчивостью к химиотерапии.

Целью работы являлось получение и оценка свойств нового иммунотоксина, состоящего из HER2-специфичного одноцепочечного антитела (scFv) в качестве направляющего модуля и фрагмента псевдомонадного экзотоксина А в качестве токсического модуля.

Целевой белок был экспрессирован в *E.coli* штамм BL21(DE3) и очищен методами металл-аффинной и ионообменной хроматографии. Анализ аффинности иммунотоксина проводили методом поверхностного плазмонного резонанса. Цитотоксичность иммунотоксина для клеток с различным уровнем экспрессии рецептора HER2 исследовали методом МТТ. Оценку противоопухолевой эффективности иммунотоксина *in vivo* проводили методом флуоресцентного имиджинга на HER2-гиперэкспрессирующей флуоресцентной модели опухоли человека. Для получения ксенографтной опухолевой модели иммунодефицитным мышам линии *nude* были подкожно привиты клетки карциномы яичника человека, трансфицированные красным флуоресцентным белком *Katushka* (SKOV-kat). Динамику роста опухоли оценивали на основе показателя интегральной интенсивности флуоресцентного сигнала по площади опухолевого узла.

Показано, что полученный иммунотоксин оказывает специфический цитотоксический эффект на HER2-положительные клетки. В ходе прижизненного мониторинга роста HER2-

гиперэкспрессирующей опухоли выявлен выраженный противоопухолевый эффект иммунотоксина, сравнимый с действием стандартного химиоагента цисплатина. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности иммунотоксина в отношении опухолей, характеризующихся гиперэкспрессией онкомаркера HER2, и целесообразности дальнейших исследований его свойств и подбора оптимальных доз.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (договор № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проект № 13-04-40228-Н).

СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ТЕСКАЛЦИНА СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА ПРИВОДИТ К ПОВЫШЕНИЮ СЕКРЕЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНА 6

**Соловьева В.В.¹, Колобынина К.Г.¹, Гомзикова М.О.¹, Тазетдинова Л.Г.¹,
Мартынова Е.В.¹, Хайбуллина С.Ф.¹, Слепак В.З.², Ризванов А.А.¹**

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

²Медицинская школа Миллера при Университете Майами, США

solovyovavv@gmail.com

Тескалцин играет важную роль в клеточной дифференцировке, а также взаимодействует с субъединицей 4 сигналысомы COP9, Na⁺/H⁺-антипортом 1 типа и контролирует экспрессию факторов транскрипции семейства Ets через PMA-индуцированный ERK-путь. Мезенхимные стволовые клетки (МСК) играют важную роль в регенерации органов и тканей, а также характеризуются мультипотентностью направлений дифференцировки. МСК секретируют множество трофических и протекторных факторов. Это является основанием для их внедрения в клиническую практику для терапии различных заболеваний человека. Жировая ткань является богатым источником МСК, имеющих высокий регенеративный потенциал (СКЖТ). В настоящей работе мы исследовали секрецию цитокинов/хемокинов СКЖТ, генетически модифицированными лентивирусом, кодирующим кДНК Тескалцина человека (LV-Tesc).

МСК были выделены из жировой ткани по методике, описанной ранее [Zuk P.A. et al., 2010]. СКЖТ культивировали в среде DMEM, содержащей 10% FBS, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ L-глутамин. Кондиционированную среду собирали через 72 ч после трансдукции лентивирусов LV-Tesc, центрифугировали при 600 g в течение 5 мин и фильтровали через фильтр 0,22 мкм. Мультиплексный анализ цитокинов/хемокином проводили с использованием набора Bio-Plex Pro 27-Plex (# M50-0KCAF0Y, Bio-Rad), который позволяет проводить одновременную количественную оценку 27 цитокинов человека в супернатанте клеток. Анализ проводили по методике, рекомендуемой производителем, на приборе Bio-Plex 200 (Bio-Rad).

Одной из стратегий для увеличения терапевтического потенциала трансплантированных клеток является их генетическая модификация для повышения секреции лечебных факторов или ограничения адаптивной дифференцировки. В работе из жировой ткани человека были выделены стволовые клетки, которые по своим морфологическим и фенотипическим характеристикам были аналогичны МСК. Было показано, что генетическая модификация СКЖТ лентивирусом LV-Tesc приводит к повышению секреции интерлейкина 6 (ИЛ-6) (8226 пг/мл) по сравнению с контрольными клетками, модифицированными лентивирусом, кодирующим кДНК GFP (3218 пг/мл). ИЛ-6 секретируется Т-клетками и макрофагами для стимуляции иммунного ответа. Таким образом, сверхэкспрессия Тескалцина СКЖТ может увеличить терапевтический потенциал этих клеток для использования в регенеративной медицине.

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕХАНИЗМА АДАПТАЦИИ РЕПТИЛИЙ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Соломайкин Е.И., Романова Е.Б., Николаев В.Ю.

ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

e7v4gen5iy@yandex.ru

Гематологическая составляющая иммунитета отражает любые функциональные изменения организма, происходящие в процессе жизнедеятельности. Учитывая, что рептилии – эволюционно первая группа животных, у которой начинается расхождение клеток по самостоятельным лимфатическим и кровеносным путям, изучение их гематологии представляет важный шаг на пути к исследованию иммуногемопоза этих животных в условиях антропогенной трансформации среды.

Целью работы являлась оценка лейкоцитарной формулы крови рептилий. В приготовленных мазках крови выявляли клетки гранулоцитарного (гетерофилы, эозинофилы, базофилы) и агранулоцитарного (азурофилы, моноциты, лимфоциты) рядов.

Преобладающими клетками лейкоцитарного ряда в периферической крови уже являлись лимфоциты. Их доля составляла более 50 %. У ужа обыкновенного (*N. natrix*) выявлены статистически значимые различия по количественному содержанию гранулоцитов в крови самок и самцов. У самок, по сравнению с самцами, в периферической крови выше доля базофильных гранулоцитов. У неполовозрелых особей по сравнению с самцами меньше относительное содержание гетерофилов. Статистически значимых межвидовых различий между двумя видами: уж обыкновенный (*Natrix natrix*) и уж водяной (*Natrix tessellata*), не выявлено, что может быть обусловлено их генетической близостью. Межполовые различия выявлены в лейкограммах выборок ужа обыкновенного по содержанию гранулоцитарных клеток, выполняющих определенные функции в поддержании иммунного статуса организма в изменяющихся условиях внешней среды.

В лимфоцитарно-гранулоцитарном составе периферической крови обыкновенной гадюки преобладали агранулоциты, при этом доля лимфоцитов составляла – 45.07 ± 1.35 %; азурофилов – 2.79 ± 0.18 %; моноцитов – 28.47 ± 0.97 %. Выявлены половые различия в лейкоцитарном составе периферической крови гадюки обыкновенной (*Vipera berus*), затрагивающие гранулоцитарный ряд дифференцировки клеток. Самки характеризовались повышенным содержанием гетерофилов и эозинофилов и пониженным содержанием базофилов по сравнению с самцами.

Таким образом, адаптация к изменяющимся условиям обитания протекает неодинаково не только в различных систематических группах организмов, но и у близких видов и даже популяций. В развитии защитных реакций организма основную роль играют лейкоциты, и поэтому изменение лейкоцитарной формулы крови может служить показателем качества среды.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА К ЦИТОТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ПАКЛИТАКСЕЛА И ЦИСПЛАТИНА

Тазетдинова Л.Г., Соловьева В.В., Ризванов А.А.

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

safinaleys@gmail.com

Стволовые опухолевые клетки (СОК) – уникальная популяция клеток, способных к бесконечному самостоятельному обновлению, мультилинейной дифференцировке, и обладающих устойчивостью к цитотоксической терапии рака. СОК могут запускать злокачественный рост и обуславливать устойчивость опухоли к терапии. Актуальной задачей является разработка модели стволовых опухолевых клеток на основе мезенхимных стволовых клеток (МСК) человека, генетически модифицированных онкогенами и факторами транскрипции, содержащимися в клетках агрессивных опухолей, для доклинического скрининга противоопухолевых препаратов. В нашей работе из жировой ткани человека были

выделены МСК для моделирования возможности их трансформации в СОК. На первом этапе работы были проведены исследования по определению цитотоксического действия паклитаксела и цисплатина на нативные МСК из жировой ткани. МСК из жировой ткани (СКЖТ) выделяли с помощью ферментативной обработки 0,2% раствором коллагеназы краба. Выделенные клетки имели фибробласто-подобную морфологию и обладали способностью к длительной пролиферации *in vitro* (7-8 пассажей).

Иммунофенотипирование СКЖТ проводили с помощью иммуофлуоресцентного окрашивания специфичными антителами к маркерам дифференцировки (CD14, CD29, CD45, CD73, CD90, CD105, CD133 и CD166) и дальнейшего анализа на проточном цитометре Guava easyCyte 8HT (Millipore). Было показано, что большинство СКЖТ экспрессируют поверхностные антигены характерные для МСК человека: CD29, CD73, CD90, CD105 и CD166. В тоже время СКЖТ не экспрессируют маркеры дифференцировки CD14, CD45 и CD133, характерные для гемопоэтических клеток. Цитотоксичность паклитаксела (Pharmachemie) и цисплатина (ЕВЕВЕ) определяли с помощью реагента CellTiter 96 AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega) на планшетном анализаторе CERES 900HDi через 48 часов инкубации по методике, рекомендуемой производителем. На основании данных, полученных в результате проведения MTS-теста, вычисляли цитотоксическую концентрацию препаратов (CC50), при которой происходит ингибирование жизнеспособности клеток на 50% относительно контроля.

Было показано, что CC50 для препарата паклитаксел составляет 60 мкг/мл, для цисплатина – 5 мкг/мл. Планируется дальнейшая генетическая модификация выделенных МСК онкогенами и факторами транскрипции, что придаст МСК свойства, характерные для СОК и агрессивных опухолевых клеток. Разработанная модель стволовых опухолевых клеток будет применена для тестирования противоопухолевых препаратов.

РОЛЬ БАЛАНСА АКТИВНОСТИ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ А2А- И А1-ТИПА В МЕХАНИЗМЕ РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

Тарасова Е.О., Митева А.С., Гайдуков А.Е.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва Россия

cate1990@list.ru

На моторных нервных терминалях присутствуют как минимум два типа аденозиновых рецепторов: А2А и А1-типа. Данные об их влиянии на выброс ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах при активации эндогенным аденозином в основном свидетельствуют о преобладающей роли тормозных А1-рецепторов. Цель наших исследований заключалась в выявлении механизма облегчающего действия А2А-рецепторов на секрецию ацетилхолина (АХ) и изучении роли баланса активации рецепторов А1- и А2А-типа.

Аппликация агониста А2А-рецепторов CGS-21680 (1 мкМ) приводила к увеличению квантового состава потенциалов концевой пластинки (ПКП) по всему ходу короткого ритмического залпа (50 Гц, 1 с) на 18,4%. Аналогичный эффект оказывал антагонист А1-рецепторов DСРСХ (100 нМ). Таким образом, к облегчению секреции АХ приводит как активация пресинаптических А2А-рецепторов экзогенным агонистом, так и блокада А1-рецепторов.

Антагонист А2А-рецепторов ZM241385 (10 нМ) не влиял на параметры вызванного выброса медиатора, но предотвращал прирост квантового состава ПКП при ингибировании кальцинейрина – фосфатазы, держащей под тормозным контролем L-тип кальциевых каналов терминали. Исходя из этого, А2А-рецепторы обладают тоническим облегчающим влиянием на работу кальциевых каналов L-типа, которое необходимо для усиления выброса АХ.

На фоне предварительного потенцирующего действия CGS-21680, последующая аппликация блокатора кальциевых каналов L-типа нитрендипина (1 мкМ) возвращала квантовый состав ПКП к контрольному уровню.

Известно, что в центральной нервной системе активация метаботропных А1- и А2А-рецепторов влияет на активность РКА, которая, в свою очередь, может регулировать работу L-типа кальциевых каналов. В наших экспериментах ингибирование РКА при помощи Н-89 (1

мкМ) не оказывало влияния на квантовый состав ПКП в залпе, но предотвращало облегчающее действие CGS-21680.

При усилении секреции АХ за счёт растормаживания кальциевых каналов L-типа необходимым звеном является вовлечение кальциевого депо терминали и амплификация кальциевого сигнала. На фоне предварительной блокады рианодиновых рецепторов кальциевого депо высокой концентрацией рианодина (3 мкМ) аппликация CGS-21680 не приводила к усилению выброса АХ.

Итак, активация А2А-рецепторов запускает последовательное усиление работы РКА, L-типа кальциевых каналов и выброс кальция из внутриклеточного депо, что в итоге приводит к облегчению выброса АХ. По всей видимости, в норме этому влиянию противодействует тормозная активность А1-рецепторов

РЕГУЛЯЦИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОЖИ В ПОДРОСТКОВОМ И ЮНОШЕСКОМ ВОЗРАСТЕ

Тверитина Е.С.

ОГАОУ ДПО Белгородский институт развития образования, Белгород, Россия

elenatveritina@mail.ru

В основу работы положены результаты обследований девочек (n=19) в возрасте 12-13 лет и девушек (n=39) в возрасте 18-21 года. Исследование включало регистрацию реакции кожных микрососудов на температурное воздействие. Запись показателей микроциркуляторного русла кожи проводили с помощью двухканального лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия) в красной области спектра излучения. При исследовании реакции микрососудов кожи на температурное воздействие использовали блок «ЛАКК-ТЕСТ» (НПП «Лазма», Россия). В течение всех этапов эксперимента зонд флоуметра фиксировали на коже ладонной поверхности дистальной фаланги II пальца кисти левой руки. Исходные ЛДФ – граммы записывали в течение 5 минут. Запись тепловой (дилататорной) пробы проводили со скоростью 4° С в минуту в течение 10 минут в температурном диапазоне 32° С - 45° С. В термонеutralных условиях у девушек показатель микроциркуляции был ниже по сравнению с подростками, однако кровоснабжение в их группе происходило на уровне всех звеньев микрососудов кожи. Девочки-подростки отличались сниженным значением флакса, что указывало на угнетение активных вазомоторных механизмов модуляции тканевого кровотока и преобладания в регуляции тонических симпатических влияний. Значения кардиального и дыхательного ритмов не имели существенных различий в рассматриваемых группах. Дилататорная проба у девочек в первые минуты нагревания вызвала активацию миогенных механизмов регуляции кровотока и снижение миогенного тонуса прекапиллярных сфинктеров. В условиях воздействия высоких температур (39-45° С) на кожную поверхность пальца руки регуляция кровотока кожи осуществлялась преимущественно за счет изменения нейрогенного тонуса артериол и показателя шунтирования. В группе девушек в начальный период тепловой пробы регуляция кровотока кожи осуществлялась преимущественно за счет изменения миогенного тонуса сосудов, в условиях конечно заданной температуры регистрировали значительный рост функционального вклада кардиального ритма в кровоток, что указывало на дилатацию крупных артериол. Таким образом, в термонеutralных условиях группа девочек отличается более высоким тонусом сосудов по сравнению с девушками. При воздействии высокой температуры рост кровотока кожи обусловлен изменением объема крови на уровне атериоло-венулярных анастомозов в группе подростков, крупных артериол – в группе лиц юношеского возраста.

НМДА-ОПОСРЕДОВАННЫЕ ЭФФЕКТЫ ГОМОЦИСТЕИНА НА СЕТЕВУЮ АКТИВНОСТЬ ГИППОКАМПА У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ

Тимонина А.А., Минькина Е.А., Хайрутдинова Р.Р.

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

timoninarina@mail.ru

Эндогенные тиолы – большая группа соединений содержащих SH-группы, к которым относятся – метионин, цистеин, гомоцистеин, таурин, и др., обеспечивающих окислительно-восстановительный баланс клеток. Гомоцистеин - серосодержащая аминокислота, формируется в качестве промежуточного продукта в цикле метионина, и его производство регулируется наличием витаминов группы В и взаимодействием с фолиевой кислотой (Louisa et al., 2009). Известно, что в центральной нервной системе у взрослых крысят гомоцистеин способен активировать НМДА-рецепторы (Folstein M., 2007). Поэтому целью наших исследований было оценить роль активации НМДА-рецепторов в реализации эффектов гомоцистеина на сетевую активность гиппокампа в ранний период онтогенеза крысят, при помощи регистрации опуляционных спайков в СА3 области гиппокампа новорожденных крысят. Ранее нами было показано, что гомоцистеин в дозо-зависимой манере увеличивал частоту опуляционных спайков и гигантских деполяризирующих потенциалов (ГДП). Добавление агониста глутаматных каналов – НМДА приводило к усилению сетевой активности в первую неделю постнатального развития мозга за счет деполяризации принципиальных клеток СА3 области гиппокампа. Так аппликация НМДА в концентрации 0,1мкМ вызывало увеличение частоты ГДП на 54±5% ($p<0.05$ $n=3$), а при 1 мкМ 196±12% ($p<0.05$ $n=3$) относительно контроля. На фоне действия НМДА происходит усиление частоты ГДП на 54,54±4,5 ($p<0.05$ $n=3$), а при добавлении гомоцистеина на 145,45±4,28 ($p<0.05$ $n=3$). Отключение подачи НМДА в раствор приводило к восстановлению частоты до исходных значений.

На основе полученных данных было показано, что НМДА достоверно и обратимо усиливает спонтанную сетевую активность гиппокампа в первую неделю постнатального развития крысенка. Можно предположить, что существует независимый путь влияния - гомоцистеин действует через активацию НМДА-каналов.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-15-00618

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО ДИСБАЛАНСА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПИГМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЛИЧИНОК ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ *XENOPUS LAEVIS*

Точило У.А., Молчанов А.Ю.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

yanulyana@gmail.com

Пигментная система амфибий - это сложный комплекс, развивающийся из клеток нервного гребня, которые мигрируют в разных направлениях, давая три вида клеток: меланофоры, иридофоры и ксантофоры. Пигментная система не иннервирована, однако, отвечает на действие различных гормонов. На меланофоры показано влияние мелатонина (вызывает агрегацию) и меланоцитстимулирующего гормонов (дисперсию). Те же гормоны, в ходе развития влияют на общее развитие: существует определенный гормональный баланс, который дает нормальное развитие животного. При смещении баланса в то или иное направление идут изменения в физиологии. Пигментная система может самовосстанавливаться при повреждении. При разрушении меланофоров требуется около 10-12 дней, причем восстановление идет с избытком - плотность клеток после регенерации превышает плотность до операции. Ранее мы рассмотрели влияние фона и стадии развития на ход восстановления пигментной системы, и было показано, что характер регенерации отличается в зависимости от условий.

Была проведена стандартная операция по удалению меланофоров. Под бинокляром стеклянным капилляром разрушали около 30 клеток. Затем проводилась обработка животных гормонами. Было три варианта обработки - до операции, на второй и пятый день после операции. Животных помещали в чашки Петри с раствором мелатонина (1,5 нг/мл) или МСГ (15 нг/мл). Через час животных возвращали обратно в их контейнеры. Контрольная группа

гормонов не получала. Головастики содержались на сером фоне в термостате при 23 градусах. На 0, 2, 5, 7, 9 и 11 день проводилась фотофиксация, а затем, подсчет восполнившихся клеток. Все данные были сведены в таблицу и проанализированы.

В результате были выявлены различия в регенерации при различных условиях. В случае МСГ наиболее сильный ответ наблюдается при добавлении гормона на второй день после операции, восстановление идет на 90% больше нормы, когда в контроле увеличение числа клеток достигает только 17%. При добавлении мелатонина на нулевой день регенерация замедляется, на 12 день после операции клеток на 10% меньше, чем до нее, однако, при добавлении гормона на второй день - количество увеличивается на 47% (против 17%). У контрольных животных, при добавлении мелатонина, снижается уровень появления новых клеток, видимо экзогенный гормон тормозит митозы. В контрольной группе за 12 дней добавилось 69% новых клеток, в опытной - 23%. В прошлом, мы получали торможение митотической активности у животных, содержащихся на белом фоне (50% появившихся клеток), однако мелатонин еще сильнее угнетает пролиферативную активность, чем белый фон.

СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСТРУМЕНТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ВНЕСЕНИЯ МУТАЦИЙ В ГЕН *SOD1*, НА ОСНОВЕ СИСТЕМ TALENs И CRISPR/CAS9

Устьянцева Е.И.^{1,2,3}, Валетдинова К.Р.^{1,2,3,4}, Медведев С.П.^{1,2,3,4}

¹ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет; ²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН; ³ФГБУ Новосибирский НИИ кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина;

⁴ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

eremeeva1993@gmail.com

Моделирование генетических заболеваний с использованием плюрипотентных стволовых клеток является одним из перспективных направлений молекулярной патологии и фармакологии. В качестве основы для таких моделей могут быть использованы клеточные линии с искусственно внесенными в их геном мутациями – изогенные линии. Одно из условий для создания направленных мутаций – наличие двунитевого разрыва, который может быть сгенерирован при помощи таких систем, как TALENs (Transcription Activation-Like Effector Nucleases) и CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/ CRISPR-associated). Их активность варьирует от сайта к сайту, а особенности узнающих доменов создают вероятность нецелевого взаимодействия. Все это определяет необходимость проверки эффективности действия созданных инструментов до начала основных экспериментов.

Целью данной работы было создание и характеристика инструментов для геномного редактирования на основе систем TALENs и CRISPR/Cas9, предназначенных для внесения мутаций в ген *SOD1*.

На данный момент подобраны конструкции TALENs и CRISPR/Cas9 к 8 сайтам в последовательности гена *SOD1*, для внесения 11 мутаций, которые приводят к нарушению работы, стабильности, созревания белка *SOD1*. Была произведена трансфекция конструкций, экспрессирующих компоненты TALENs и CRISPR/Cas9, в клетки линии HEK293 с последующим выделением геномной ДНК, амплификацией интересующих последовательностей и их анализом с помощью эндонуклеазы I фага T7 (T7EI) и секвенирования клонированных ПЦР-продуктов. В качестве дополнительного метода исследования была произведена трансфекция HEK293 плазмидой, содержащей помимо CRISPR/Cas9 последовательность GFP, сортировка клеток по GFP и T7EI анализ субпопуляции трансфицированных HEK293.

Все исследования показали эффективность TALENs и CRISPR/Cas9 систем в отношении производства мутаций в определенных последовательностях гена *SOD1* и низкий риск нецелевых эффектов.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ ТЕРАПИИ НА ПАМЯТЬ И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА КРЫС ПРИ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОМ РАССТРОЙСТВЕ, СФОРМИРОВАННОМ УЛЬТРАЗВУКОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ

**Ушакова В.М.¹, Зубков Е.А.², Морозова А.Ю.², Юсубалиева Г.М.²,
Иноземцев А.Н.¹, Чехонин В.П.²**

¹ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова; ²ФГБУ Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии Минздрава России, Москва, Россия

scobelevavm@gmail.com

Депрессия является важной проблемой здравоохранения в наши дни, - согласно ВОЗ она может стать второй ведущей причиной инвалидности в мире к 2020 году. Действенным методом лечения заболевания является применение электросудорожной терапии (ЭСТ), однако использование ЭСТ ограничивается возможностью появления временной амнезии, показанной в некоторых исследованиях. Поэтому в нашей работе мы попытались оценить влияние ЭСТ на память и функциональную активность мозга у крыс с депрессивно-подобным расстройством, сформированным ультразвуковым воздействием.

Работа выполнена на белых крысах-самцах (*Rattus norvegicus*) весом 200-300 г. Для формирования депрессивно-подобного расстройства животные подвергались воздействию ультразвука (25-45 кГц) на протяжении 21 дня, после моделирования патологии ЭСТ проводилась регулярно в течение 10 дней. Для оценки поведения в опыте использовался тест условная реакция пассивного избегания (УРПИ). Определение уровня нейрогенеза в мозге крыс производилось методом иммуногистохимического анализа. Измерение фракционной анизотропии трактов, проходящих через мозолистое тело, проводилось методом диффузной тензорной трактографии мозолистого тела.

После проведения ЭСТ у крыс с депрессивно-подобным расстройством в УРПИ было получено снижение времени нахождения в опасном темном отсеке, а также статистически значимое увеличение латентного периода захода в темный отсек для группы после ЭСТ по сравнению с модельной группой, что может быть связано с сохранением следа памяти у крыс после терапии. Также после проведения ЭСТ было показано увеличение уровня нейрогенеза в области гиппокампа и префронтальной коры и зафиксировано усиление фракционной анизотропии трактов, проходящих через мозолистое тело у крыс после ЭСТ, что может свидетельствовать о положительном стимулирующем влиянии терапии.

Таким образом, в нашей работе не было выявлено негативного влияния электросудорожной терапии на память у крыс с депрессивно-подобным расстройством, сформированным УЗ-воздействием. Более того, было показано стимулирующее действие терапии, выражающееся в усилении нейрогенеза и фракционной анизотропии трактов мозолистого тела. Более тщательное изучение эффектов ЭСТ, а также подробное исследование механизмов ее влияния могло бы внести значительный вклад в решение проблемы терапии депрессии.

МЕЖКЛЕТОЧНАЯ АДГЕЗИЯ ПОВЫШАЕТ ЛЕКАРСТВЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОМОНОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА

**Фадеев Р.С.^{1,2}, Захаров С.Г.³, Соловьева М.Е.¹, Слядовский Д.А.⁵, Фадеева И.С.^{1,2},
Сенотов А.С.⁴, Голенков А.К.³, Акатов В.С.^{1,2}**

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино; ³ГБУЗ МО

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва; ⁴ФГБУЗ Саратовский медицинский центр ФМБА

России, Балаково; ⁵ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им.

Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

FadeevRS@gmail.com

Острый миеломонобластный лейкоз (FAB M4) наиболее часто встречающаяся форма острого миелоидного лейкоза. Для данной формы характерно быстрое накопление в костном

мозге трансформированных клеток с различной степенью зрелости, обладающих признаками как миелобластной (гранулоцитарной), так и монобластной (моноцитарной) линии дифференцировки, на фоне быстрого подавления нормального гемопоэза. Микроокружение лейкозных клеток в костном мозге является одним из основных факторов, определяющих устойчивость к действию консервативной терапии. Известно, что адгезия лейкозных клеток к мезенхимальным стромальным клеткам и внеклеточному матриксу костного мозга (ламинин, коллаген) способствует повышению их лекарственной устойчивости. Однако остается неизвестным, возможно ли возникновение лекарственной устойчивости при адгезии только между лейкозными клетками, без участия элементов стромы костного мозга. В данной работе проведено изучение возникновения лекарственной устойчивости в трехмерных многоклеточных агрегатах лейкозных клеток.

В работе были использованы мононуклеарные клетки, выделенные из костного мозга пациентов с острым миеломонобластным лейкозом.

В многоклеточных агрегатах происходит повышение лекарственной устойчивости лейкозных клеток. Индекс IC50 бортезомиба, доксорубицина и флударабина в контрольных условиях составлял $2 \pm 0,5$ нг/мл, $0,3 \pm 0,05$ мкМ и $0,07 \pm 0,001$ мкМ, соответственно. Индекс IC50 бортезомиба, доксорубицина и флударабина в многоклеточных агрегатах был значительно выше и составлял 7 ± 1 нг/мл, $1 \pm 0,4$ мкМ и $0,8 \pm 0,05$ мкМ соответственно. Данное повышение устойчивости в многоклеточных агрегатах формируется на фоне неизменной, относительно контрольных условий, пролиферативной активности. Число митотических клеток и экспрессия белка ki-67 достоверно не отличались от контрольных условий. Также было показано, что у клеток в многоклеточных агрегатах происходит повышением экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2. При разобщении межклеточных контактов, путем культивирования клеток в среде с содержанием метилцеллюлозы происходит снижение индекса IC50 бортезомиба, доксорубицина и флударабина до $2 \pm 0,7$ нг/мл, $0,12 \pm 0,004$ мкМ и $0,04 \pm 0,005$ мкМ соответственно, происходящее на фоне снижения экспрессии белка Bcl-2.

Таким образом, в исследовании продемонстрировано участие межклеточной адгезии в формировании лекарственной устойчивости клеток острого миеломонобластного лейкоза.

Работа проведена при поддержке Стипендиального гранта Президента РФ (№СП-1519.2015.4, СП-6867.2013.4), Гранта РФФИ (№14-04-32183) и гранта Правительства РФ (№14.Z50.31.0028).

ОБЛУЧЕНИЕ СОЛНЕЧНЫМ СВЕТОМ ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ В ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Фахранурова Л.И.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

LFakhranurova@gmail.com

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД, дистрофия сетчатки) - это хроническое заболевание, при котором поражается макула (это часть сетчатки, находящаяся на заднем полюсе глазного яблока). Основными причинами возникновения ВМД являются постепенный процесс старения организма и глаза в частности, травма, инфекционные, воспалительные заболевания глаз, высокая близорукость, наследственные причины, перенесенные офтальмологические операции, продолжительное и интенсивное воздействие прямых лучей солнечного света. Нами было проанализированы изменения жизнеспособности и пролиферативной активности клеток различных культур млекопитающих вызванных облучением солнечным светом. Было исследовано влияние света в синей ($\lambda_{\max}=470$ нм), фиолетовой ($\lambda_{\max}=395$ нм), красной ($\lambda_{\max}=625$ нм) частях спектра и света большой интенсивности на жизнеспособность фибробластов линии NCTC clone L929, клеток роговицы (SIRC) и эпителиальные клетки HEp2. Оценку жизнеспособности клеток проводили с использованием МТТ-теста, окрашивания набором L-7007 LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit и анализируя конфлюэнтность клеток. Облучение, как в синей и фиолетовых участках спектра, так и большой интенсивностью света, вызывало явное угнетение жизнеспособности клеток всех клеточных культур по данным тестов. В тоже время облучение

дополнительной оранжево-красной компонентой полученной с помощью светопреобразующих материалов приводит к стимуляции жизнеспособности клеток.

Таким образом, мы показали, что фотоповреждение может приводить к дегенерации клеточных элементов сетчатки, в первую очередь ее рецепторов и клеток пигментного эпителия, также к значительному снижению жизнеспособности фибробластов и клеток роговицы глаза.

Работа выполнена при поддержке стипендии Президента (СП-6350.2013.4) и гранта РФФИ 14-44-03672.

ИЗМЕНЕНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ БЛОКАТОРА КАНАЛОВ TRPC В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Харьковская Е.Е.¹, Жидкова Н.М.¹, Мухина И.В.²

¹ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского;

²ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия,

Нижний Новгород, Россия

elharkov@gmail.com

Изучение причин возникновения и развития заболеваний сердечно-сосудистой системы охватывает большой спектр условий работы сердца и всего организма в целом. В частности, к таким условиям относится гипоксия и активность ионных каналов клеток миокарда.

Целью проведенного исследования являлось изучение влияния блокатора кальциевых каналов TRPC (transient receptor potential channels canonical) на вариабельность сердечного ритма (BCP) крысы в условиях гипоксии. Сердца белых беспородных крыс перфузировались по методу Лангендорфа с использованием раствора Кребса-Хенселейта, в том числе с добавлением блокатора каналов TRPC1 2-apb (2-Aminoethoxydiphenyl borate, Sigma) в концентрации 10 мкМоль. Для аэрации раствора использовался газ карбоген - смесь кислорода (95%) и углекислого газа (5%). Для регистрации электрической активности сердца была использована установка мультиэлектродного картирования (Multichannel systems, Germany). Полученные данные были обработаны с помощью программ Cardio2d (Multichannel systems, Germany) и Microsoft Excel (Microsoft). В качестве параметра BCP изучался CV (coefficient of variation) – коэффициент вариации – стандартное отклонение, нормированное на среднем интервале R–R: $CV = \frac{SDNN}{R-R} \cdot 100\%$, где SDNN - собственно стандартное отклонение временного ряда кардиоинтервалов. Сравнения средних значений исследуемых показателей сердечной активности производились по t-критерию Стьюдента для зависимых выборок. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

В результате проведенного исследования было установлено, что за 30 минут перфузии изолированного сердца крысы показатель CV возрастал в среднем в 1,4 раза к концу эксперимента. В условиях гипоксии (продолжительность 10 минут) значение CV возрастало с $1,7\% \pm 0,2\%$ до $5,3\% \pm 0,5\%$ относительно первых десяти минут нормальной перфузии и составляло $3,8\% \pm 0,5\%$ при возобновлении оксигенации (продолжительность 10 минут). На фоне использования блокатора каналов TRPC значение CV повышалось с $1,7\% \pm 0,2\%$ до $2,2\% \pm 0,3\%$ по сравнению с контрольным периодом и оставалось таким же при возобновлении перфузии стандартным раствором. При одновременном влиянии условий гипоксии и блокатора TRPC на изолированное сердце крысы значение CV увеличивалось с $1,7\% \pm 0,2\%$ до $4,7\% \pm 0,3\%$ и сохранялось до конца эксперимента.

ДИНАМИКА ВРЕМЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИМПУЛЬСНОЙ АКТИВНОСТИ В РЕЦЕПТИВНЫХ ПОЛЯХ НЕЙРОНОВ ПЕРВИЧНОЙ СЛУХОВОЙ КОРЫ ДОМОВОЙ МЫШИ

Хорунжий Г.Д.

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

knjasgleb@gmail.com

В составе первичной слуховой области коры больших полушарий конечного мозга у домово́й мыши принято выделять три слуховых поля – первичное слуховое поле (AI), переднее слуховое поле (AAF) и ультразвуковое поле (UF) (Stiebler et al., 1997). В результате исследования свойств импульсной активности нейронов первичных слуховых полей коры у бодрствующих мышей, было предположено, что нейроны этих полей могут быть вовлечены в точное временное кодирование начала акустического стимула (Joachimstaller et al., 2014). С целью проверки этой гипотезы, в настоящей работе выполнено систематическое описание латентных периодов и паттернов ответов одиночных нейронов первичной слуховой коры наркотизированных мышей на тональные сигналы, охватывающие все частотное возбуждающее рецептивное поле нейрона.

В экспериментах была зарегистрирована активность 141 одиночного нейрона первичной слуховой коры мыши, 77 из которых были локализованы в поле AI, 50 - в поле AAF, и 14 – в поле UF. Все исследованные нейроны имели только фазные характеристики активности, т.е. отвечали на сигналы только фазным или пачечным разрядом. Лишь у 5 нейронов латентные периоды ответов изменялись с изменением частоты и интенсивности сигнала не более чем на 6 мс. Латентные периоды ответов всех остальных нейронов варьировали в широком диапазоне (8 – 96 мс) по всему возбуждающему рецептивному полю нейрона. У 40% нейронов частотное возбуждающее рецептивное поле можно было подразделить на центральную и периферическую части. По периферии области возбуждающего ответа (т.е. вдоль ее границ) у таких нейронов наблюдался пояс ответов с латентностями, превышающими 40 мс. В центральной части возбуждающего рецептивного поля нейрона латентные периоды их ответов были более стабильны, но все равно варьировали у разных нейронов от 8 до 47 мс. Полученные данные свидетельствуют о том, что, несмотря на фазные характеристики активности нейронов слуховой коры, подавляющее большинство из них отличаются вариабельностью латентных периодов ответов в возбуждающем рецептивном поле. Поскольку постоянство латентных периодов ответов, по-видимому, является необходимым условием для точного временного кодирования начала акустического стимула, мы полагаем, что эти процессы слабо представлены на корковом уровне слуховой системы.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 12-04-00969 и 15-04-05234).

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИЕНТЕРАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ

Хочанский Д.Н., Мхитаров В.А., Пономаренко Е.А.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

dimitrvs@mail.ru

Энтеральная нервная система играет важную роль в патогенезе воспалительных заболеваниях кишечника. Литературные данные об изменении энтеральной нервной системы при этой патологии фрагментарны (Cirillo S., 2011), поэтому была проведена морфологическая и морфометрическая оценка изменений миентеральных ганглиев ободочной кишки при экспериментальном остром колите.

Работа выполнена на половозрелых самцах мышей линии C57Bl/6 массой тела 20-28 г. Для индукции острого колита (n=5) питьевую воду заменяли на 2,5% раствор декстран сульфата натрия на 5 дней. Контрольная группа (n=5) получала питьевую воду. Животных выводили из эксперимента на 7-ые сутки. Гистологические срезы ободочной кишки окрашивали по методу Ниссля. Проводили подсчет количества миентеральных ганглиев и нейронов, соответствующих правилу центрального сечения, на единицу длины кишки, оценивали клеточный состав

миентеральных ганглиев. Измеряли площадь миентеральных нейронов центрального сечения и их ядер. Проводили статистическую обработку полученных данных, для оценки статистической значимости различий между показателями использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

При остром колите общее количество миентеральных ганглиев и нейронов на единицу длины кишки увеличилось, что связано с уменьшением общей длины ободочной кишки. При анализе клеточного состава миентеральных ганглиев было отмечено статистически значимое снижение количества гипохромных и увеличение гиперхромных нейронов, а также снижение числа клеток нейроглии. При остром колите по сравнению с контролем общее количество нейронов на ганглии статистически значимо не изменилось, а показатели площади нейронов и их ядер статистически значимо уменьшились.

Таким образом, при экспериментальном остром колите, индуцированном ДСН, выявлены изменения клеточного состава миентеральных ганглиев – уменьшение количества гипохромных и повышение количества гиперхромных нейронов в сочетании со снижением числа клеток нейроглии. Выявленные изменения энтеральной нервной системы могут обуславливать нарушения ее моторной и секреторной функции.

НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К РЕКОНСТРУИРОВАНИЮ СОМАТИЧЕСКОГО ОКРУЖЕНИЯ ОВАРИАЛЬНЫХ ФОЛЛИКУЛОВ И ИЗУЧЕНИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ КЛЕТОЧНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ *IN VITRO*

Храмова Ю.В.¹, Никишин Д.А.^{1,2}, Багаева Т.С.¹, Филатов М.А.¹, Семенова М.Л.¹

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

²ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

yul.khramova@gmail.com

Изучение овариального фолликулогенеза, в частности взаимодействия клеточных элементов в составе фолликулов, открывает широкие перспективы как для репродуктивной медицины, так и для биологии развития. Целью нашей работы стало изучение взаимодействия клеточных элементов, выделенных из различных источников с первичными многослойными овариальными фолликулами при культивировании в 3D условиях в системе "висячая капля". В экспериментах использовали неполовозрелых мышей-гибридов F1 линий C57Bl/6JxSVAJ, а также трансгенных мышей с экспрессией GFP, любезно предоставленных лабораторией геномики адаптивного иммунитета ИБХ РАН. Фолликулы сокультивировали со смешанной популяцией клеточных элементов стромы яичника и МСК, выделенными из костного мозга (МСК КМ), в системе "висячая капля" в среде aMEM с 10% FCS и добавлением bFGF, L-глутамина, ИТС, гентамицина и гепарина. Анализ образцов после культивирования *in vitro* проводили методами лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии, а также методом количественного ПЦР-анализа.

В результате исследований мы показали, что при сокультивировании клеточных компонентов с овариальными фолликулами происходит увеличение диаметра как фолликула, так и ооцита. Клетки стромы яичника образовывали с фолликулом агрегат, в котором мы наблюдали элементы самоорганизации: уплощенные клетки (подобные теке) - на поверхности, а округлые клетки (подобные гранулезе) – в центре реконструированного фолликула. При сокультивировании МСК КМ с фолликулами также образовывалась единая структура, но требовалось больше времени, чем в предыдущем случае. МСК КМ входили в состав фолликула, что было подтверждено методом конфокальной микроскопии. При анализе методами электронной микроскопии мы также увидели, что клетки меняют форму, становятся веретеновидными с большим количеством отростков. Помимо прочего мезенхимные клетки меняли свой фенотип с CD34-,CD45-,CD73+,CD90+,CD105+ на CD34+,CD45-,CD73-,CD90+,CD105+, а также следовали приобретали маркеры стероидогенных клеток теки: LHR, Cyp17a1.

Таким образом, в результате наших исследований были подобраны условия для реконструирования соматического окружения овариальных фолликулов, обеспечивающие рост фолликула и ооцита в составе новообразованной структуры. Было показано, что в

реконструированном фолликуле наблюдаются элементы самоорганизации. Кроме того, были получены первые данные, свидетельствующие о том, что МСК КМ способны дифференцироваться в направлении текальных клеток под действием индуцирующих сигналов, исходящих от фолликула.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОТСТАВЛЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ОСТРОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ НЕОНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ У ДЕТЕНЬШЕЙ БЕЛЫХ КРЫС

Хухарева Д.Д., Суханова Ю. А.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

7carcharodon@gmail.com

Перинатальная гипоксия (ПГ) является основным фактором, оказывающим негативное влияние на развитие центральной нервной системы у новорожденных. На сегодняшний день существует мало литературных данных, посвященных исследованию острых и отставленных эффектов ПГ. В связи с этим, целью данной работы явилось изучение влияния ПГ на физическое развитие и поведение детенышей белых крыс.

Исследование проводили на 178 крысах обоего пола из 15 выводков. Каждый выводок был разделен на 2 группы: животные 1-ой группы на 2 день жизни (дж) подвергались острой нормобарической гипоксии (ОНГ) (8% O₂ в течение 2 ч, T=37⁰C), крысы 2-ой группы (контроль) не подвергались гипоксии и в течение 2-х часов находились при T=37⁰C отдельно от матери.

Оценка острых эффектов неонатальной нормобарической гипоксии показала, что однократное гипоксическое воздействие приводит к значительной летальности как на фоне гипоксического воздействия, так и на протяжении последующих наблюдений. После гипоксии у животных замечено выраженное посинение кожных покровов, что свидетельствует о развитии ацидоза. У животных, перенесших ОНГ, отмечено отставание по массе тела от контроля с 21 дж и до конца наблюдений (60 дж). В тестах «Рефлекс переворачивания на плоскости» (6 дж) и «Отрицательный геотаксис» (12 дж) наблюдали увеличение времени выполнения реакции. Кроме того, в тестах «Открытое поле» (30 дж) и «Суок» (38 дж) у крыс, подвергавшихся ОНГ, было зарегистрировано увеличение горизонтальной двигательной активности по сравнению с контролем при одинаковом уровне вертикальной двигательной активности, что свидетельствует о гиперактивности животных. В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» на фоне высокой стрессорной нагрузки (36 дж) выявлено увеличение латентного периода выхода на светлые рукава лабиринта и снижение вертикальной активности у крыс, подвергшихся гипоксии, по сравнению с контрольными животными, что свидетельствует об увеличении тревожности и снижении исследовательской активности.

На основании полученных результатов можно заключить, что 2-х часовая острая нормобарическая гипоксия на 2 день жизни крыс приводит к замедлению набора веса тела и нарушению становления моторных рефлексов, увеличению уровня тревожности и снижению исследовательской активности, а также к развитию гиперактивности у животных. Последствия гипоксии наблюдали в течение 2-х месяцев, следовательно, они носят отставленный долговременный характер.

ИССЛЕДОВАНИЕ Ca²⁺-АКТИВИРУЕМЫХ Cl⁻ КАНАЛОВ Ano1 И Ano2 В ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ

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

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

leva-trockiy@yandex.ru

Кальций-активируемые ионные каналы функционируют в самых разнообразных клетках и конвертируют внутриклеточные Ca²⁺ сигналы в изменение мембранного потенциала. Такие ионные каналы составляют гетерогенное семейство, которое включает K⁺ каналы нескольких типов, катионные каналы, такие как TRPM4 и TRPM5, и анионные каналы, активируемые

внутриклеточным Ca^{2+} . Молекулярная природа последних не вполне ясна. Ряд данных указывает на то, что у млекопитающих мембранные белки, кодируемые генами *Ano1* и *Ano2*, могут являться ключевыми субъединицами Ca^{2+} -активируемых Cl^- каналов. Для оценки относительного вклада *Ano1* и *Ano2* в Ca^{2+} -активируемые Cl^- токи в нативных клетках, важно знать биофизические и фармакологические характеристики этих каналов. В данной работе анализировалась активность рекомбинантных каналов *Ano1* и *Ano2*, которые были клонированы из сетчатки и обонятельного эпителия, соответственно, и гетерологически экспрессированы в клетках линии CHO. Для клонирования использовался вектор pQBI25, несущий ген флуоресцентного белка EGFP, так что полученные конструкции QBI25/*Ano1* и pQBI25/*Ano2* обеспечивали экспрессию белков, представляющих собой химеру, соответственно, *Ano1* и *Ano2* с EGFP. Это позволяло надежно идентифицировать *Ano1*- или *Ano2*-положительные клетки по характерной флуоресценции в зеленой области спектра.

Ионные токи в клетках CHO регистрировались методом perforated patch clamp. Ca^{2+} -активируемые токи стимулировались путем аппликации Ca^{2+} ионофора иономицина или фотостимуляции клеток, нагруженных фоточувствительным хелатором NP-EGTA. Фотолит последнего лазерным импульсом (355 нм) приводил к высвобождению Ca^{2+} , связанного с NP-EGTA. Оказалось, что собственные Ca^{2+} -зависимые токи в клетках CHO были пренебрежимо малы. В противоположность этому повышение внутриклеточного Ca^{2+} в трансфецированных клетках стимулировало входящий Cl^- ток при потенциале покоя -50 мВ, который деактивировался по мере диссипации внутриклеточного Ca^{2+} сигнала. Как функция мембранного потенциала Ca^{2+} -зависимые Cl^- токи в *Ano1*- или *Ano2*-положительных клетках характеризовались сильным выходным выпрямлением и выраженной кинетикой активации. Характерное время активации Ca^{2+} -зависимых Cl^- токов слабо зависело от потенциала и лежало в диапазоне 60 - 90 мс и 13-16 мс в случае *Ano1*- и *Ano2*-положительных клеток, соответственно. Вне зависимости от типа экспрессированного канального белка - *Ano1* или *Ano2*, формируемые ими Ca^{2+} -активируемые Cl^- каналы были близки по чувствительности к общим анионным блокаторам, включая SITS, DIDS, и 9-AC. В противоположность этому блокатор T16inh-A01 ингибировал *Ano1*-зависимые Cl^- -токи и несколько потенцировал *Ano2*-зависимые Cl^- -токи. Таким образом, Ca^{2+} -зависимые Cl^- каналы, формируемые канальными белками *Ano1* или *Ano2* могут быть идентифицированы по кинетике активации и по чувствительности к T16inh-A01.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты 13-04-00913, 13-04-40082).

МОРФОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ У КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ИЗБЫТОЧНОМ ПОТРЕБЛЕНИИ УГЛЕВОДОВ И ЖИРОВ

Чернышева М.Б., Цветков И.С., Мхитаров В.А.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

m.b.chern@gmail.com

Высококалорийное питание, а именно избыточное потребление жиров и углеводов, превышающее энергетические затраты организма, повышает риск развития ожирения. В литературе большое число работ посвящено морфологической характеристике внутренних органов при ожирении разной степени, но ранние морфологические изменения при предожирении в литературе не представлены.

Работа выполнена на 2 группах половозрелых самцов крыс Спрейг-Доули (питомник «Столбовая»). Экспериментальных животных содержали в стандартных условиях освещения и температурного режима при свободном доступе к пище и воде. Животные контрольной группы (n=5) получали стандартный корм ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб»); опытной (n=5) – рацион, состоящий из стандартного корма и обогащенный углеводами (фруктоза и хлеб белый) и жирами (масло пальмовое рафинированное дезодорированное отбеленное; ООО «ЭФКО Пищевые Ингредиенты»). Длительность эксперимента составила 20 недель. У крыс обеих групп измеряли массу тела и длину от конца морды до заднепроходного отверстия, вычисляли индекс массы тела. После окончания эксперимента эти показатели у крыс контрольной и опытной группы статистически значимо не различались. Проводили гистологическое исследование внутренних органов, среди которых, в первую очередь, в патологический процесс

при ожирении вовлекаются печень, поджелудочная железа и жировая ткань, окружающая придаток семенника. При морфологическом исследовании у животных опытной группы по сравнению с контрольной в печени выявлена средне- и крупнокапельная жировая дистрофия в периферических отделах долек, а также увеличение количества неэпителиальных клеточных элементов. В поджелудочной железе у 3 из 5 животных определялась морфологическая картина хронического панкреатита и очагового липоматоза. В дольках поджелудочной железы выявлена очаговая инфильтрация лимфоцитами и гистиоцитами и фиброз. В жировой ткани встречались короноподобные структуры, характерные для ожирения, представленные скоплениями макрофагов, окружающих адипоциты. Показатель средней площади среза адипоцитов у животных опытной группы был в 1,6 раз выше, чем у контрольной ($p < 0,05$), что свидетельствует об увеличении объема клеток жировой ткани, характерного для гипертрофического ожирения.

Таким образом, при длительном избыточном потреблении углеводов и жиров на стадии предожирения наблюдается гипертрофия адипоцитов, коронобразные структуры в жировой ткани, в печени развивается жировая дистрофия, а в поджелудочной железе липоматоз и хронический панкреатит.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ПРОФИЛЕЙ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ СРЕДИ СТУДЕНТОВ ПЕДАГОГИЧЕСКОГО ВУЗА

Чумакова Е.В., Красникова И.В.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет
им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия

gvkrasnikov@gmail.com

Межполушарная асимметрия является одним из факторов, определяющих процесс адаптации к изменениям окружающей среды, склонность к заболеваниям, соотношение объективных и субъективных показателей здоровья, организации эффективной трудовой и учебной деятельности.

Целью нашей работы была оценка распространенности различных профилей моторной и сенсорной межполушарной асимметрии среди студентов педагогического вуза.

В исследовании приняли участие 50 студентов ТГПУ им. Л.Н.Толстого 18-22 лет (41 девушка и 9 юношей). Для определения индивидуального профиля МПА использовали опросник М. Аннет и 17 проб для выявления ведущих руки, глаза и уха.

По соотношению всех трех видов асимметрий, определяемых по схеме «рука - ухо - ведущий глаз», теоретически могут быть выделены 27 вариантов асимметрий. В нашей группе испытуемых было выявлено 8 вариантов праворуких профилей МПА, 3 варианта – леворуких, 2 варианта – амбидекстральных.

В процессе определения профиля МПА выявлено, что большинство обследованных характеризуется праворукостью с различными вариантами доминирования уха и глаза – 84 %, количество леворуких студентов составило 8%, лиц с нечетко выраженной асимметрией – 4%. Каждая из этих групп не является однородной.

Среди праворуких к «чистым правшам» (ППП) относятся 30% от общей выборки, к праворуким с ведущим левым глазом – 22%, к праворуким с ведущим левым ухом – 20%. Достаточно большую часть праворуких студентов (18%) составляют испытуемые с признаками амбидекстрии по глазу или уху.

«Чистых левшей» в нашей выборке обнаружено не было. Группу леворуких составили студенты, имеющие профили МПА: ЛПП, ЛПЛ, ЛАА. «Чистых амбидекстров» также не было выявлено, при ведущей левой руке отмечались разные варианты сенсорной асимметрии (АПП, АЛЛ). Полученные нами данные соответствуют с приводимыми ранее сведениями в работах Е.Д. Хомской (1997), Е.С. Молодых (2005), Буренкова Е.Н., Чиханова И.В. (2008).

ИССЛЕДОВАНИЯ РОЛИ ЦИКЛИЧЕСКОГО АДЕНОЗИНМОНОФОСФАТА В ЭФФЕКТАХ СЕРОВОДОРОДА НА ВЫЗВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ

Габитова Д.М., Шайдуллов И.Ф., Шафигуллин М.У.

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

dinagabita@mail.ru

Сероводород (H_2S) – газообразный посредник, эндогенно синтезируемый во многих системах организма млекопитающих и, в том числе, в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Показано его участие в регуляции сократительной активности различных отделов ЖКТ у разных видов животных, однако, механизмы его действия изучены недостаточно. Было предположено, что ингибирующий эффект сероводорода на двигательную активность тощей кишки может быть вызван активацией аденилатциклазы (АЦ) и последующим увеличением концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) внутри клеток. Подобное происходит и при действии вазоактивного интестинального пептида (ВИП), серотонина или гистамина, которые так же имеют расслабляющий эффект на моторику кишечника. Цель исследования заключалась в анализе роли цАМФ в эффектах сероводорода на двигательную активность кишечника крысы.

В экспериментах регистрировали силу сокращений сегментов тощей кишки крысы длиной 7 мм в изометрических условиях на установке фирмы BiopacSystems, Inc. (США). В течение всего эксперимента препарат омывался раствором Кребса (мМ: NaCl 121.0; KCl 5.9; CaCl₂ 2.5; MgCl₂ 1.2; NaHCO₃ 25.0; NaH₂PO₄ 1.2; C₆H₁₂O₆ 8.0, pH 7.2-7.4) при 37 °С в условии постоянной подачи карбогена (5% CO₂/95% O₂). В качестве донора сероводорода использовали гидросульфид натрия (NaHS), в качестве аналога цАМФ – натриевая соль 8-(4-хлорфенилтио)-аденозин-3',5'-монофосфата, а качестве блокатора АЦ – MDL. Для вызова сокращений использовали аналог ацетилхолина – карбахолин в концентрации 1 мкМ. Оценивали площадь под кривой (ППК) в течение 2 минут аппликации карбахолина, где базовой линией считался уровень на 0,5 граммов ниже уровня тонического напряжения до его добавления.

Аппликация карбахолина, агониста мускариновых рецепторов, в концентрации 1 мкМ вызывала длительное сокращение сегмента кишки. Далее препарат отмывали и после 6-10 минутной аппликации NaHS в концентрации 200 мкМ снова добавляли карбахолин. Сравнивали ППК вызванного сокращения в контроле и на фоне донора сероводорода. Оказалось, что площадь под кривой вызванного сокращения на фоне NaHS снижалась и составила 37,2±2,2% (n=14; p<0,05) от уровня контроля.

На фоне предварительной аппликации аналога цАМФ (100 мкМ) карбахолин вызывал менее интенсивное сокращение, что отражалось в уменьшении ППК, которая составила 90,7±2,2 % (n=12; p<0,05) от уровня контроля. На фоне одновременной аппликации аналога цАМФ и NaHS ППК вызванного карбахолином сокращения составила 39,1±2,2 % (n=12; p<0,05) от уровня контроля, что не отличалось от действия карбахолина на фоне NaHS. Далее блокировали аденилатциклазу посредством MDL в концентрации 1мкМ. Вызванные карбахолином сокращения на фоне MDL+NaHS составили 40,0±2,8 % (n=13; p<0,05) от уровня контроля, что также не отличается от действия карбахолина на фоне NaHS.

Таким образом, донор сероводорода уменьшает вызванные карбахолином сокращения, что указывает на возможное влияние сероводорода через механизмы, опосредующие эффекты активации мускариновых рецепторов. Увеличение уровня цАМФ незначительно снижает вызванные карбахолином сокращения. Однако, при наличии аналога цАМФ или ингибитора аденилатциклазы, эффект NaHS на сокращения, вызванные карбахолином был таким же, как и в отсутствие указанных соединений. По-видимому, аденилатциклазная система не участвует в релаксирующем эффекте NaHS в тонком кишечнике крысы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-31661.

ПИЩЕВОЕ ПОВЕДЕНИЕ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МАССЫ ТЕЛА ПРИ РОЖДЕНИИ

Шахмуров Г.А., Кучкарова Л.С.

Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Узбекистан

shga2065@yandex.ru

Повышение продуктивности рогатого скота тесно связано с нормальным течением физиологических процессов в организме, важнейшая роль среди которых принадлежит пищевому поведению. Любые отклонения в пищевом поведении в ранние периоды онтогенеза, когда потребность в пище в связи с высокими темпами роста и развития чрезвычайно велика, определяют благосостояние и продуктивность животного.

Целью данной работы явилось исследование некоторых элементов пищевого поведения телят в период молочного вскармливания.

Наблюдения проводились над новорожденными телятами (порода Голштейн) 2-3 отела на 1-2 сутки после их рождения. Телят содержали около матерей при естественных вентиляции и освещении. Коров два раза в сутки кормили полноценным смешанным рационом с неограниченным доступом к воде, пище и сухим соевым концентратам. При определении объема высосанного молока высчитывали разность массы телят до и после сосания. Специальные мешки были прикреплены к телятам для сбора и учета мочи и фекалий во время сосания. Акты поведения телят снимались на видеопленку и затем подвергались хронометрическому анализу.

Оказалось, что у телят с нормальной массой тела при рождении уверенная поза стояния, которая отражает способность новорожденного самостоятельно сосать мать, появлялась через $32,1 \pm 0,3$ мин после рождения, тогда как маловесные телята вставали на ноги в 3,8 раз позже, через $121,3 \pm 14,1$ мин ($P < 0,001$) после рождения. Продолжительность стояния у телят с нормальной массой тела составляла $15,3 \pm 0,1$ мин/час, а у телят с недостаточной массой тела при рождении этот период сокращался в 1,8 раз, составляя $9,3 \pm 1,2$ мин/час ($P < 0,001$). Время появления первого сосательного рефлекса было зафиксировано через $85,0 \pm 5,3$ мин и $151,3 \pm 1,8$ мин после рождения у телят с нормальным и малым весом тела, соответственно. Общий объем молока употребленного за сутки молока у телят с нормальным весом тела был $4,5 \pm 0,3$ л, а у телят с недостаточной массой тела - $2,8 \pm 0,2$ л.

Следует отметить, что даже при дополнительном прикорме молозивом (0,5 л 2 раза в сутки) маловесные телята не высасывали всего, предлагаемого им объема молозива, что говорит об общей слабости и/или невысокой потребности их организма в нутриентах.

Таким образом, наши данные показывают, что маловесные телята гораздо позже сверстников с нормальным весом тела встают на ноги и начинают сосать мать. Такие телята, высасывают меньший объем молока, даже при искусственном прикорме. Эти данные говорят о необходимости разработки специального режима приема молозива и молока у маловесных телят в более поздние периоды лактотрофного питания.

УЧАСТИЕ ПРОТЕИНАЗ В ОПОСРЕДОВАНИИ ВЛИЯНИЯ ПРОЛАКТИНА НА МЕТАФАЗНЫЕ ХРОСОМОСЫ В СТАРЕЮЩИХ ООЦИТАХ, ОКРУЖЕННЫХ КЛЕТКАМИ КУМУЛЮСА

Шедова Е.Н., Сингина Г.Н., Лебедева И.Ю.

ФГБНУ ВНИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста, Московская обл., Россия

shedvek@yandex.ru

Возрастное снижение женской фертильности у млекопитающих связано в первую очередь с ухудшением качества гамет. Многие молекулярные и клеточные изменения ооцитов в яичниках стареющих самок очень сходны с соответствующими изменениями, происходящими во время старения *in vitro* созревших ооцитов молодых самок (Miao et al., Hum. Reprod. Update 2009, 15: 573-585). В связи с этим пролонгированное культивирование ооцитов, достигших метафазы-II (М-II), является удобной моделью для изучения механизмов, регулирующих процессы старения яйцеклеток млекопитающих.

Целью настоящего исследования был анализ участия различных протеинкиназ в опосредовании влияния гипофизарного гормона пролактина на состояние М-II хромосом в стареющих *in vitro* яйцеклетках домашней коровы (*Bos taurus taurus*). Для этого созревшие *in vitro* ооциты коров культивировали в составе ооцит-кумулясных комплексов в течение 24 ч в присутствии и в отсутствие бычьего пролактина (50 нг/мл) и/или ингибиторов протеинкиназ (тирозинкиназ семейства Src, Akt киназы, протеинкиназы C и MEK киназы) и затем подвергали цитогенетическому анализу. Часть созревших ооцитов освобождали от клеток кумулюса и культивировали в контрольной среде или среде, содержащей пролактин. Внесение пролактина в среду старения окруженных кумулюсом ооцитов приводило к снижению частоты аномальных изменений морфологии метафазных хромосом с 56.3 ± 1.4 % (контроль) до 38.6 ± 2.0 % ($p < 0.001$). Напротив, гормон не влиял на деструктивные трансформации М-II хромосом в изолированных ооцитах. Ингибитор тирозинкиназ Src-семейства PP2 (20 мкМ), ингибитор Akt киназы трицирибин (50 мкМ) и ингибитор протеинкиназы C калпостин C (0.9 мкМ) подавляли действие пролактина на стареющие ооциты, окруженные клетками кумулюса, повышая частоту морфологических аномалий М-II хромосом соответственно с 37.9 ± 0.8 до 55.7 ± 2.6 %, с 41.7 ± 1.6 до 53.6 ± 2.1 % и с 42.5 ± 2.5 до 66.9 ± 3.6 % ($p < 0.001$). В то же время ингибитор MEK киназы U0126 (20 мкМ) не блокировал тормозящее действие пролактина на связанные со старением изменения метафазных хромосом в ооцитах. При этом все ингибиторы не влияли на частоту хромосомных нарушений в отсутствие гормона. Полученные данные свидетельствуют о том, что пролактин может ингибировать деструктивные трансформации М-II хромосом в стареющих ооцитах коров путем активации сигнальных каскадов, зависящих от тирозинкиназ семейства Src, Akt киназы и протеинкиназы C, в окружающих клетках кумулюса. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-01888).

ВЛИЯНИЕ ТРОПОМИОЗИНА С КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИМИ МУТАЦИЯМИ НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СКЕЛЕТНОМЫШЕЧНЫХ АКТИНА И МИОЗИНА

**Щепкин Д.В.¹, Копылова Г.В.¹, Матюшенко А.М.^{2,3}, Боровков Д.И.^{1,4},
Левицкий Д.И.^{2,3}, Бершицкий С.Ю.¹**

¹ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург; ²ФГБУН Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, ³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва; ⁴ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

d.shchepkin@iip.uran.ru

Важная роль в регуляции взаимодействия миозина с актином поперечнополосатых мышц принадлежит тропомиозину (ТМ). Мутации ТМ нарушают акто-миозиновое взаимодействие, что ведет к миопатиям и кардиомиопатиям. ТМ с мутациями α -цепи, приводящими к кардиомиопатиям, экспрессируется также в скелетных мышцах, не вызывая их патологических изменений. Впервые исследовано функциональное влияние гипертрофических (D175N, 180G) и дилатационных (E40K и E54K) мутаций ТМ на скелетные мышцы. Используя метод искусственной подвижной системы, получены зависимости скорости скольжения реконструированных тонких филаментов, содержащих актин, тропонин и ТМ, от концентрации кальция по поверхности, покрытой миозином. Оценены максимальная скорость тонких филаментов (V_{\max}) и кальциевая чувствительность (pCa_{50}) связи 'pCa-скорость'.

Рекомбинантный ТМ получен в лаборатории структурной биохимии белка (Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН). В качестве контрольного использовался С190А ТМ. Миозин, актин и тропонин выделены из *m. psoas* кролика.

Мутации ТМ по-разному влияют на кальциевую регуляцию взаимодействия актина и миозина скелетных мышц. Мутации D175N и E180G увеличивают V_{\max} тонкого филамента и кальциевую чувствительность связи 'pCa-скорость' как и в исследованиях с использованием сердечного тропонина (Wang et al., *J Biomed Biotechnol.*, 2011). Значения V_{\max} составили: 4.8 ± 0.2 мкм/с для С190А, 6.6 ± 0.3 и 6.6 ± 0.7 мкм/с для D175N и E180G, соответственно. Значения pCa_{50} были равны 6.52 ± 0.11 , 6.73 ± 0.29 , 6.83 ± 0.04 для С190А, D175N и E180G. Мутация E54K

увеличивала V_{\max} до 6.9 ± 0.04 мкм/с и pCa_{50} до 6.63 ± 0.37 , а E40K уменьшала V_{\max} (3.1 ± 0.1 мкм/с), и pCa_{50} (6.36 ± 0.04).

Таким образом, мутации D175N и E180G TM одинаково влияют на кальциевую регуляцию акто-миозинового взаимодействия в сердечной и скелетной мышцах. Видимо, в скелетной мышце имеются механизмы, компенсирующие это влияние. В скелетных мышцах TM представлен не только преимущественно α -гомомерами, как в сердце, но и α - β гетеродимерами; возможно, что образование гетеродимеров нивелирует эффект мутаций TM, ведущих к гипертрофии сердца, на кальциевую регуляцию сокращения. Так, в работе Janco и др. (Janco et al., *Biochemistry*, 2012) были получены гомодимеры α -TM, одна из цепей которого несла гипертрофическую мутацию. По функциональным свойствам такой TM был близок к нативному, в отличие от TM, обе цепи которого имели данную мутацию.

Исследования поддержаны РФФИ (грант № 13-04-40099-Н, 13-04-40101-Н).

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ А2Е И ЕГО ОКИСЛЕННЫХ ФОРМ В ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛАХ ИЗ КЛЕТОК РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

Яковлева М.А.¹, Гулин А.А.^{2,3}, Бельских Ю.С.³, Арбуханова П.М.⁴,

Надточено В.А.^{2,3,5}, Фельдман Т.Б.^{1,3}, Борзенко С.А.⁴, Островский М.А.^{1,3}

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ²ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, ³ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова,

⁴ФГБУ Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза»,

⁵ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Москва, Россия

lina.invers@gmail.com

Липофусциновые гранулы (ЛГ) – сложные образования липидно-белковой природы. ЛГ накапливаются в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ) глаза человека в процессе старения и особенно интенсивно при некоторых патологиях, например, при возрастной макулярной дегенерации (ВМД). ЛГ обладают ярко выраженной флуоресценцией. На этом основан современный неинвазивный метод диагностики глазных патологий – аутофлуоресценция глазного дна. Флуоресцентные свойства ЛГ обусловлены наличием в них более 21 флуорофора – производных полностью-*транс*-ретинала. Структура большей части флуорофоров еще не установлена. Наиболее изученным является флуорофор ЛГ – бис-ретинилиден этаноламин (А2Е). Ранее нами было показано, что с возрастом в составе ЛГ повышается относительное содержание продуктов фотоокисления и фотодеградации А2Е. Окисленные формы А2Е обладают фото/токсичными свойствами, поэтому увеличение их относительного содержания в ЛГ может рассматриваться как фактор риска при старении сетчатки и при возникновении и развитии ВМД. Для определения вклада окисленных форм А2Е в картину аутофлуоресценции глазного дна важно знать не только возрастные изменения содержания этих флуорофоров по сравнению с самим А2Е, но и их распределение внутри гранул.

Целью данной работы было сравнительное изучение распределения А2Е и его окисленных форм в наружном (липидном) и внутреннем слоях ЛГ.

ЛГ были выделены из РПЭ кадаверных глаз доноров разных возрастов. Кадаверные глаза человека были получены из Глазного тканевого банка ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Было проведено сравнительное изучение состава ЛГ в их темновых образцах. Распределение А2Е и его окисленных форм в толще ЛГ было исследовано методом времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (TOF-SIMS). Масс-спектры образцов снимали послойно, путем последовательного «стравливания» внешних слоев ионами цезия (Cs⁺). В данном методе ионизация молекул образца происходит за счет его облучения импульсным сфокусированным пучком ионов висмута с энергией 30 кэВ. Изменения наблюдали, сравнивая изменение сигнала (количества ионов) для пиков с определенными m/z в составе общего масс-спектра ЛГ сначала на поверхности гранул, а затем на разной глубине.

Показано, что основное количество А2Е и продуктов его окисления накапливается во внутренних слоях гранул, в то время как в поверхностном слое они присутствуют лишь

следовых количествах на фоне высокого содержания липидов. Внутри гранулы распределение А2Е и его окисленных форм, судя по предварительным данным, является равномерным.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПОСЛЕ ИШЕМИИ И НА ФОНЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

Янкаускас С.С.¹, Мацневский Д.Д.², Зорова Л.Д.³, Зоров Д.Б.¹, Плотников Е.Ю.¹

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, ФГБОУ ВО МГУ им.

М.В. Ломоносова, ²ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии,

³Международный учебно-научный лазерный центр, ФГБОУ ВО МГУ им.

М.В. Ломоносова, Москва, Россия

stanislovas@mail.ru

Ишемия-реперфузия (И/Р) почки является частой причиной развития острой почечной недостаточности. И/Р запускает патологические каскады, в том числе, нарушающие кровоток внутри органа. Целью данной работы было изучение вызываемых И/Р изменений почечной и системной гемодинамики и влияние на них ишемического прекондиционирования (ИПК).

Самцов белых крыс под хлоралгидратным наркозом подвергали 40-мин ишемии и 40-мин реперфузии левой почки. Измерение кровотока производили с помощью ультразвуковой высокочастотной доплеровской техники. Датчики бандажного типа фиксировали на почечной артерии и на брюшной аорте. В каждом опыте одновременно регистрировали линейную (Vл) и объёмную скорость (Vоб) кровотока. По значениям пиковых систолических и минимальных диастолических скоростей рассчитывали индекс резистивности. За контроль для данного животного брали устоявшиеся в течение 10 минут значения измеряемых параметров.

После 40 мин ишемии и 1 мин реперфузии мы наблюдали уменьшение Vоб кровотока по почечной артерии до $30 \pm 1\%$ от предишемического уровня. Максимальное восстановление ($42 \pm 11\%$) наблюдали на 25-й минуте реперфузии. После И/Р так же возрастало почечное сосудистое сопротивление: до ишемии индекс резистивности составлял $0,76 \pm 0,09$, через 1 мин реперфузии – $0,92 \pm 0,04$, на 30-й минуте – $0,98 \pm 0,02$. Регистрация скорости кровотока по брюшной аорте не выявила значимых изменений системной гемодинамики. Таким образом, регистрируемые изменения почечной гемодинамики отражают патологические изменения именно сосудистого русла почки.

ИПК почки (4 цикла по 5 мин ишемии и 5 минут реперфузии непосредственно перед 40-минутной ишемией) улучшало гемодинамические параметры почки после И/Р: на 1-й минуте реперфузии Vоб по почечной артерии составляла $41 \pm 2\%$, на 15-й мин – $98 \pm 5\%$, на 25-й мин – $123 \pm 8\%$ от предишемических значений. Аналогично, наблюдалась быстрая нормализация индекса резистивности: до ишемии его значение составляло $0,62 \pm 0,08$, на 1-й мин $0,97 \pm 0,05$, на 10-й мин – $0,66 \pm 0,13$, на 25-й мин $0,63 \pm 0,07$.

Таким образом, было показано, что высокочастотная ультразвуковая доплеровская техника является эффективным методом изучения динамики почечного кровотока, обладающим такими преимуществами как высокая точность измерения и неинвазивность. Использование данного метода позволило выявить резкое нарушение внутрпочечной гемодинамики, вызванное 40-мин ишемией почки крысы и защитные эффекты ишемического прекондиционирования.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-00300.

СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ»

MOLECULAR DYNAMIC SIMULATIONS OF WATER MOVEMENT IN CYANOBACTERIAL PHOTOSYSTEM II

Kljashorny V.G., Gabdulkhakov A.G.

ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

azat@vega.protres.ru

Photosystem II (PSII) is a complex comprising of proteins, lipids, pigments, and other small molecules. It is embedded within the thylakoid membranes of cyanobacteria, algae, and plants and acts as a water : plastoquinone oxidoreductase. This enzyme utilizes solar energy to split water into molecular oxygen, protons, and electrons through a series of successive reactions. Water, which serves as the substrate of the water-oxidizing complex, is the main environmental component, and the product of the reaction- O₂ -is potentially hazardous. Therefore, it is evident that the controlled substrate transport and the efficient removal of the products (electrons, O₂, and protons) from the catalytic site, the active structure of which is determined by the specific protein environment, should occur in PSII. Speculations about the possible mechanisms of water oxidation led to different hypotheses about the number, arrangement, and specificity of the channels connecting the WOC with the lumen. The previous studies on the elucidation of water channels in PSII are based on an analysis of the cavities in its structure determined by X-ray diffraction.

In the present study the monomer of cyanobacterial PSII was inserted into a water box using calculations of the molecular dynamics trajectories with the Gromacs software package, and the free movement of water molecules inside and outside PSII was tracked for 50 ns under normal atmospheric pressure at room temperature. In order to collect statistical data, this procedure was repeated three times.

The authors would like to acknowledge financial support of RAS within the program “Molecular and Cell Biology”, Russian Foundation for Basic Research (15-04-03041a).

ВЛИЯНИЕ ОСВЕЩЁННОСТИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И УДЕЛЬНУЮ СКОРОСТЬ РАСХОДА БИОМАССЫ ЦИАНОБАКТЕРИИ *ARTHROSPIRA PLATENSIS* (NORDST.) GEITLER

Авсиян А.Л., Тренкеншу Р.П.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия

anna.l.avsiyan@gmail.com

Современные исследования показывают, что даже на свету в клетках микроводорослей параллельно с фотосинтезом происходят дыхательные процессы, приводящие к эндогенному расходу биомассы.

Дыхание водорослей, традиционно разделяют на «дыхание роста» и «дыхание поддержания». Метаболические затраты на поддержание по определению не зависят от скорости роста, тогда как затраты на синтез описывают дополнительный прирост потребления энергии, необходимый для производства биомассы.

Интенсивность дыхания микроводорослей, зачастую оказывается линейно зависимой от их скорости роста. Соотношение интенсивности дыхания с интенсивностью фотосинтеза важно для моделирования и расчета продуктивности микроводорослей как в природных условиях, так и при промышленном культивировании.

Целью работы было исследование влияния освещенности на продукционные характеристики и удельную скорость эндогенного расхода биомассы *Arthrospira platensis* при накопительном культивировании.

В качестве объекта использовали цианопрокариоту *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nordst.) Geitl. Культивирование осуществляли в накопительном режиме. В шести вариантах опыта освещенность варьировала от 2,5 до 16,2 кЛк. Ежедневно производили отбор проб для определения плотности культуры.

На основании представлений о соотношении фотосинтеза и дыхания была предложена математическая модель взаимосвязи продуктивности и эндогенного расхода биомассы.

Снижение величины продуктивности при росте плотности культуры обусловлено тем, что при неизменной валовой продуктивности возрастают потери, связанные с эндогенным расходом биомассы:

$$P = P_0 - \mu_r \times B,$$

где P – наблюдаемая продуктивность; P_0 – валовая продуктивность, μ_r – удельная скорость эндогенного расхода биомассы, B – биомасса (плотность культуры).

Приведенная выше модель была использована для описания литературных данных, в которых показано снижение продуктивности с увеличением плотности культуры при различной освещенности. Было показано, что зависимость продуктивности от биомассы достоверно аппроксимируется предложенным уравнением, рассчитаны коэффициенты P_0 , μ_r . С увеличением освещенности обе эти характеристики возрастали.

В нашем эксперименте продуктивность и μ_r также возрастали при увеличении освещенности. Значения μ_r имели тот же порядок, что и по данным (Ну, 1998).

Таким образом, было определено влияние освещенности на удельную скорость расхода биомассы *A. platensis* и предложена математическая модель, достоверно описывающая соотношение продуктивности и расхода биомассы низших фототрофов.

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН КЛЕТКАМИ ЭНДОФИТНЫХ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS* НА ПОСТУПЛЕНИЕ ИОНОВ СВИНЦА В ПОБЕГИ *TRITICUM AESTIVUM*

**Арефьева А.А.¹, Арсланова А.И.¹, Смирнова Ю.В.¹, Курамшина З.М.¹,
Хайруллин Р.М.²**

¹Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Стерлитамак; ²ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

arefeva.nata1993@yandex.ru

Изучено влияние инокуляции семян эндофитными штаммами *Bacillus subtilis* на поступление ионов свинца в побеги *Triticum aestivum* (сорт Омская-35), выращенных на почве загрязненной солями металла. Показано, что обработка растений клетками *B. subtilis* снижала токсический эффект свинца, что проявлялось в показателях лучшего роста при высоких концентрациях металла.

Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Семена пшеницы стерилизовали 96%-ым этанолом, ополаскивали в дистиллированной воде, подсушивали. В экспериментах использовали бактерии *B. subtilis* шт. 26Д. Обработку семян бактериями проводили в ламинар-боксе. В опытах использовали 20-часовую культуру бактерий, растущую на мясо-пептонном агаре при +37 °С. Клетки бактерий отмывали раствором 0,001 М КСl. 1 г семян обрабатывали 20 мкл суспензии бактерий концентрации 10⁶ кл/мл. Обработанные семена выдерживали в течение часа, затем использовали в экспериментах. Контрольные семена обрабатывали дистиллированной водой. Инокулированные и контрольные семена выращивали в вегетационных сосудах. Соль Pb(NO₃)₂·4H₂O в почву вносили в виде раствора, однократно после посадки семян, в концентрации ионов свинца 10 и 1500 мг/кг почвы. Контрольные растения поливали дистиллированной водой. Растения выращивали при температуре 18-20°С при равномерном освещении. Измерение сырой массы побегов и отбор проб проводили на 30 сутки от начала эксперимента.

Сухие побеги озоляли в смеси азотной и хлорной кислот (5:1 по объему). Свинец в побегах определяли методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии на приборе Spectra AA 200 (Австралия). Все эксперименты проводили в трех биологических повторностях.

В результате проведенных экспериментов было выявлено, что растения, инокулированные клетками *B. subtilis*, имели более высокие показатели биомассы побегов, чем необработанные, как в присутствии металла, так и без него. Выявлено снижение содержания свинца в побегах растений, обработанных бактериями, в отличие от необработанных. Так, при концентрации 10 мг/кг содержание свинца в побегах обработанных *B. subtilis* 26Д растений пшеницы было ниже на 5%, чем у необработанных, а при 1500 мг/кг - ниже на 44%.

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ХЛОРОФИЛЛА В СЕМЯДОЛЬНЫХ ЛИСТЬЯХ *LINUM USITATISSIMUM*, ОБЛУЧЕННОГО ОСТРОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ РАДИАЦИЕЙ

Берестяная А.Н.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАНУ, Киев, Украина

a.berestyayana@yandex.ru

Изучение онтогенетических реакций растений на неблагоприятные воздействия среды составляет одну из наиболее интересных проблем радиобиологии. На сегодня недостаточно исследованным остается вопрос влияния ионизирующего облучения на пигментный состав монокарпиков в процессе старения. Известно, что одним из эффектов облучения выступает радиационно-индуцированное старение. Воздействие ионизирующей радиации вызывает нарушение физиологических и биохимических свойств листа, что детектируется по снижению содержания хлорофилла. Изменения в содержании пигментов свидетельствуют о стрессовом характере ионизирующего облучения и о темпах гидролитических процессов, ассоциированных со старением.

Изучали динамику содержания хлорофилла, характеризующую скорость гидролитических процессов. В качестве модельного объекта было выбрано монокарпическое однолетнее травянистое растение *Linum usitatissimum*. Исследование проводили на семядольных листьях растения, отмирание которых наступает в фазу начала цветения. Облучали отстрой рентгеновской радиацией на стадии формирования настоящих листьев. Диапазон доз составлял: 1, 3, 5, 15 Гр. Выращивали, отбирали семядольные листья на разных стадиях их онтогенеза. Онтогенез семядольных листьев условно разделили на 4 стадии: С1, С2, С3, С4, каждая из которых соответствовала видимым структурным изменениям листа, в частности пожелтение 0, 5, 25-50, 50-75% листовой поверхности.

В качестве метода исследования использовали спектрофотометрический метод определения содержания хлорофилла *a*, *b* и их суммы в экстрактах листьев. Результаты обрабатывали статистически, выводили средние арифметические значения из всех повторностей и их среднеквадратичные ошибки.

В результате было установлено, что облучение рентгеновской радиацией вызвало изменения в содержании хлорофилла листьев на разных стадиях онтогенеза. Уменьшение концентрации хлорофилла в процессе старения происходило нелинейно в зависимости от дозы рентгеновского облучения, которой облучали проростки.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ И СКОРОСТИ РОСТА НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРЕ *PORPHYRIDIVM PURPUREUM*

Боровков А.Б., Гудвилевич И.Н.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия

spirit2000sev@yandex.ru

Микроводоросли рода *Porphyridium*, в частности, *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross. (синоним *Porphyridium cruentum* Näg.), являются уникальными модельными объектами при изучении роли пигментов в фотосинтезе. С практической точки зрения данный вид может служить источником ряда ценных физиологически активных и питательных веществ, в частности В-фикоэритрина. Известно, что относительное содержание данного пигмента в клетках *P. purpureum* варьирует в достаточно широком диапазоне в зависимости от условий культивирования.

Объект исследования – *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross (штамм IBSS-70) из коллекции ИнБЮМ. Выращивание осуществляли в культиваторах плоскопараллельного типа с толщиной рабочего слоя 5 см. В процессе выращивания культуру непрерывно снабжали газовой воздушной смесью с концентрацией углекислоты 2 – 3 %, рН среды поддерживали на уровне 8 – 9 ед. В качестве источника света использовали лампу ДРЛ-750, поверхностную освещённость культиваторов варьировали от 5 до 200 Вт/м². Выращивание осуществляли на питательной

среде по Тренкеншу методом квазинепрерывного культивирования, скорость протока питательной среды составляла 10, 20, 30, 40 и 50 сут⁻¹.

При проведении опыта по достижению стационарного равновесия плотность культуры колебалась от 0,6 г·л⁻¹ (минимальная освещенность и минимальная удельная скорость роста) до 3,5 г·л⁻¹ (средняя освещенность при минимальной скорости роста). Увеличение интенсивности освещения (в 2 раза) и скорости роста (в 5 раз) вызывало снижение плотности культуры (в 5 раз) до 0,7 г·л⁻¹ (200 Вт/м² и 40 сут⁻¹).

Экспериментально установлено, что с ростом интенсивности освещения и скорости роста культуры содержание фикоэритрина в клетках микроводоросли снижается от 9,6% ОВ (при 50 Вт/м² и удельной скорости роста 0,2 сут⁻¹) до 3% (при 200 Вт/м² и удельной скорости роста 0,5 сут⁻¹).

Выявлена область условий по интенсивности освещения и скорости роста культуры *P. purpureum* (25-100 Вт/м² и 0,1-0,2 сут⁻¹) для накопления максимального количества фикоэритрина (7,5–9,6 % ОВ) в клетках микроводоросли. Увеличение интенсивности освещения и скорости роста культуры от оптимальных значений приводит к значительному увеличению облученности клеток, интенсивному фоторазрушению пигмента и, как следствие, снижению относительного содержания фикоэритрина в клетках *P. purpureum* (3–4,3 % ОВ).

Таким образом, для получения биомассы *P. purpureum*, обогащённой В-фикоэритрином, необходимо учитывать, как интенсивность освещения, так и скорость роста микроводоросли в полупроточной культуре.

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ ПОЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА АУКСИНА И ДЕЙСТВИЕ ЭТИЛЕНА НА ПЕРЕСТРОЙКИ АКТИНОВЫХ МИКРОФИЛАМЕНТОВ В ХОДЕ ГРАВИТРОПИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ КОРНЕЙ АРАБИДОПСИСА

Гобова А.Е.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

anna.gobova@gmail.com

Гравитропизм – это направленный рост органов растения относительно вектора силы тяжести. Направление роста задает градиент концентрации ауксина, который транспортируется полярно благодаря активности переносчиков PIN. При гравистимуляции индуцируется синтез стрессового гормона этилена. Ранее были получены данные о реорганизации актинового цитоскелета в ходе гравитропической реакции. Цель работы – изучение влияния регуляторов полярного транспорта ауксина на переориентацию актиновых микрофиламентов в ходе гравитропической реакции корней арабидопсиса.

Объектом исследования служили 7-суточные проростки *Arabidopsis thaliana*, трансформированные конструкцией GFP-fABD2. Актиновый цитоскелет визуализировали с помощью конфокального микроскопа Leica TCS SPE; угловое распределение микрофиламентов получали из программы Microfilament Analyzer.

Актиновый цитоскелет выявили во всех исследованных типах клеток в кончике корня от апикальной меристемы до зоны растяжения. В вертикально (*v*) и горизонтально (*g*) ориентированных корнях, обработанных раствором этефона (продуцент этилена), происходило укорочение и фрагментация актиновых микрофиламентов. В корнях (*v*, *g*), обработанных аминоэтоксивинилглицином (AVG, 10⁻⁵ М), ингибитором синтеза этилена, увеличивалась доля микрофиламентов, ориентированных наклонно и поперечно. Обработка корней (*v*, *g*) антагонистом этилена – салициловой кислотой (10⁻⁵ М) приводила к появлению наклонных и поперечно ориентированных микрофиламентов. Са²⁺-хелатор EGTA (10⁻⁵ М) вызывал избыточную полимеризацию актина в корнях (*v*, *g*), сопровождавшуюся появлением всех вариантов ориентации актиновых микрофиламентов: аксиальных, продольных и поперечных.

Были сделаны следующие выводы: этефон вызывает фрагментацию цитоскелета и уменьшение яркости флуоресценции (по сравнению с контролем). Салицилат ускоряет реорганизацию цитоскелета и в целом угнетает гравитропическую реакцию за счет подавления синтеза этилена. AVG индуцирует появление всех типов ориентации актиновых филаментов (с

преобладанием наклонно ориентированных актиновых микрофиламентов). Ca^{2+} -хелатор EGTA нарушает нормальное для вертикального роста (v) угловое распределение микрофиламентов с доминированием аксиальной и наклонной ориентации. Удаление Ca^{2+} из клеточных стенок с помощью EGTA ингибирует гравитропический изгиб.

Работа выполнена при финансовой поддержке СПбГУ (М.2, проект 1.38.233.2014 «Механизмы ориентации растений в пространстве относительно вектора силы тяжести»).

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ПРОФИЛЕЙ КОРНЕЙ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)

Жернаков А.И., Жуков В.А.

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

alezheprg@yandex.ru

Настоящая работа является частью исследования тигморфогенетических реакций корней растений. Целью данной части был анализ транскриптомных профилей корней гороха (*Pisum sativum* L.) под влияния различного субстрата. В качестве модели был выбран мутант гороха SGE_{cr}t, характеризующийся повышенной чувствительностью к плотности субстрата.

Сравнительный анализ транскрипционных профилей кончиков корней дикого типа SGE и мутанта SGE_{cr}t проводили у растений, выращенных в условиях, у которых ярко проявляется мутантный фенотип: песок и жидкая гидропонная культуры. В обоих условиях мутантные растения ярко выражено проявляют измененный фенотип корневой системы. Растения вынимали из субстрата на 12 день после прорастания семян, отрезали кончик главного корня длиной 3-5 мм и фиксировали замораживанием в жидком азоте.

Для анализа транскрипционных профилей использовали технологию MACE (massive amplification of cDNA ends), которая в отличие от RNA-seq позволяет проводить секвенирование участков молекул ДНК, расположенных вблизи 5' или 3'-региона. Из собранного биологического материала (кончиков корней) выделяли тотальную РНК, синтезировали на ее основе кДНК, фрагментировали кДНК и выделяли фракцию фрагментов размером 250 п.н. Из данной фракции путем гибридизации фрагментов на стрептавидиновых шариках, содержащих поли-Т зонд, выделяли 3'-концевые фрагменты мРНК и лигировали с адаптерными последовательностями TrueQuant, содержащими технические последовательности для секвенирования и мультиплексные идентификаторы, уникальные для каждой из проб. Созданные таким образом библиотеки секвенировали на геномном секвенаторе Illumina HiSeq 2000.

В общей сложности было получено более 10 миллионов последовательностей, которые внесли в создаваемую базу данных транскрибируемых элементов гороха, которая использовалась в качестве образца для построения транскрипционных профилей. Были выделены группы генов, экспрессия которых меняется в различных условиях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (14-24-00135) и гранта РФФИ (14-04-32000).

ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБНОСТИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* К МИКСОТРОФНОМУ ТИПУ ПИТАНИЯ

Жондарева Я.Д.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия

janochka-kerch@yandex.ru

Живые организмы нуждаются в энергии для поддержания метаболической деятельности и углероде для построения своей биомассы.

Культуры микроводорослей выращивают на свету, т.е. фотоавтотрофно. Скорость роста в плотных культурах ограничивается вследствие самозатенения клеток. Такие ограничения позволят преодолеть комбинация фотоавтотрофного и гетеротрофного метаболизма, т.е. миксотрофный тип питания, когда источником энергии и углерода являются свет и органические вещества одновременно. Также миксотрофное культивирование требует

относительно низкие интенсивности света, что может снижать энергетические затраты на производство конечной продукции биомассы микроводорослей.

Цель работы состояла в оценке влияния органических источников углерода и энергии на примере глюкозы и глицерина на рост *Phaeodactylum tricornutum* как представителя большинства видов морских микроводорослей, являющихся ценным источником эйкозопентаеновой кислоты.

Феодактилиум культивировали в стеклянных фотобиореакторах плоскопараллельного типа объёмом 1 л в условиях круглосуточного освещения с освещённостью 8 клк.

Аппроксимированием линейной фазы накопительной кривой роста вычислена величина максимальной продуктивности культуры *Ph. tricornutum*. Контрольный и опытные варианты эксперимента находились в одинаковых условиях в течение 10 суток, достигнув стационарной фазы с одинаковой линейной скоростью роста (0,4 г/л*сут) и максимальной плотностью культуры 3 г сухого вещества с 1 л. При первом добавлении органических источников углерода и энергии в опытных вариантах в последующие 2-3-е суток отмечалось снижение интенсивности роста, что связано с адаптацией клеток к новым условиям питания.

В варианте с добавлением глюкозы максимальная плотность культуры *Ph. tricornutum* была в 0,6 раз меньше по сравнению с вариантом с добавлением глицерина, где она достигла около 5 г сухого вещества с 1 л культуры.

При повторном добавлении глюкозы в течение 3-х суток выращивания прирост плотности культуры составил около 3,62 г сухого вещества с 1 л. Однако в варианте с повторным добавлением глицерина наблюдалось снижение плотности культуры до 4,4 г/л. Это может быть связано с высокой концентрацией глицерина, так как среди морских водорослей рост *Ph. tricornutum* подавляется, если уровень глицерина в среде более 0,1 моль.

Экспериментально установлено, что глюкоза и глицерин как источники углерода и энергии стимулируют рост *Phaeodactylum tricornutum*.

Выражаю благодарность научному руководителю, к.б.н. Рудольфу Павловичу Тренкеншу и коллективу отдела Биотехнологий и фиторесурсов за оказание помощи в выполнении работы.

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ОРГАНАХ ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ СУЛЬФАТНОГО ЗАСОЛЕНИЯ

Жуков Н.Н., Лобанова Т.Н., Бойкова О.И.

ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им.

Л.Н. Толстого, Тула, Россия

z.nikolay87@mail.ru

Засоление почв – важная проблема, приводящая к снижению биоразнообразия. Повышенные концентрации ионов соли приводят к развитию окислительного стресса, нарушению ионного гомеостаза и гиперосмотическому шоку. Флавоноиды относят к числу низкомолекулярных метаболитов, которые связывают активные формы кислорода (АФК) и другие свободные радикалы, возникающие при действии многих абиотических факторов, в том числе засоления. Вещества этой природы в последние годы привлекают все большее внимание исследователей в связи с их высокой биологической активностью, участием в процессах адаптации клеток к различным стрессовым факторам и все более широким практическим применением в качестве препаратов-антиоксидантов.

В ходе проведенных исследований установлено, что содержание флавоноидов в побегах и корнях тритикале в условиях сульфатного засоления (120 мМ) возрастало в первые 12 часов (6,4 мг/г сухой массы и 3,5 мг/г соответственно), что на 10% больше значений уровня контроля. При дальнейшей экспозиции на солесодержащей среде растений тритикале содержание флавоноидов постепенно снижалось и к концу эксперимента (96 часов) снижалось на 25% от уровня контроля.

Увеличение содержания фенольных метаболитов в органах тритикале в первые 12 часов можно объяснить интенсификацией их синтеза для детоксикации образующихся при окислительном стрессе активных форм кислорода.

УЧАСТИЕ ТИЛАКОИДНОЙ α -КА4 В ЗАЩИТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ОТ ФОТОИНГИБИРОВАНИЯ

Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Мудрик В.А., Иванов Б.Н.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

Zhurikova-alena@yandex.ru

Карбоангидраза (КА) – цинксодержащий металлофермент, осуществляющий обратимую гидратацию CO_2 . Карбоангидразы в нескольких изоформах обнаружены во всех компартментах клетки. В хлоропластах высших растений находят не менее четырех изоформ фермента. Одна из изоформ, принадлежащая к альфа-семейству, α -КА4, обнаружена в тилакоидной мембране. Целью проведенного исследования было выяснение роли этой КА в процессе фотосинтеза.

В работе использовали растения *Arabidopsis thaliana* дикого типа (ДТ) и мутантные растения, нокаутированные по гену *At4g20990*, кодирующему α -КА4. Растения выращивали при 8 часовом освещении ($150 \text{ мкЕ/м}^2\text{с}$) и концентрации CO_2 450 ppm. С помощью флуориметра mini-PAM (Walz) измеряли квантовый выход электронного транспорта (Y) и нефотохимическое тушение флуоресценции (НТФ) хлорофилла *a* в листьях при варьировании концентрации CO_2 (100, 800 и 1300 ppm) и интенсивности света (100 и 550 $\text{мкЕ/м}^2\text{с}$). Сравнение указанных параметров фотосинтеза показало, что при низкой концентрации CO_2 (100 ppm) величина Y была ниже в мутантных растениях, чем в растениях ДТ, при высокой концентрации CO_2 (800 ppm) была несколько выше, а при 1300 ppm была существенно выше. Такие изменения могут быть следствием, того, что повышение концентрации CO_2 в воздушной фазе снимает ограничения в поставке CO_2 к центрам карбоксилирования. Энергозависимый компонент НФТ, qE, в мутантных растениях был значительно ниже, чем в растениях ДТ при интенсивности света 550 $\text{мкЕ/м}^2\text{с}$ и концентрации CO_2 800 ppm. Это свидетельствует о том, что в мутантах нарушен виолаксантиновый цикл, позволяющий «сбрасывать» лишнюю поглощенную энергию в тепло. Учитывая, что одним из продуктов карбоангидразной реакции является протон, можно предположить, что отсутствие α -КА4 замедляет подачу протонов, необходимых для активации виолаксантиндеэпоксидазы. После освещения растений ДТ и мутанта светом высокой интенсивности (550 $\text{мкЕ/м}^2\text{с}$) в течение 3 и 6 ч параметры Fv/Fm, Fv/F₀ были ниже у мутантных растений, чем у ДТ, что свидетельствовало о более значительном фотоингибировании фотосинтетического аппарата мутантных растений. Это согласуется с предположенным выше участием α -КА4 в развитии процессов, приводящих с тепловой диссипации энергии в пигментах фотосистем.

ИК-СПЕКТРОСКОПИЯ ЭКСТРАКТОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ НАНОЧАСТИЦАМИ МЕТАЛЛОВ

Короткова А.М., Сизова Е.А.

ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

Anastasiaporv@mail.ru

Сравнение дифференциальных ИК спектров ацетонового экстракта из шестидневных проростков *Triticum vulgare*, подвергнутых воздействию наночастиц (НЧ) железа Fe^0 , со спектром контрольных растений показало, что спектры имели отличия в высокочастотной области валентных колебаний (ν), а именно, отмечалось усиление интенсивности полосы поглощения (ПП) и ее уширение при 3452 см^{-1} , что дает ассоциированные водородной связью фенольные группировки, и, предположительно, бисфенольные структуры и полиассоциаты при обработке растений НЧ. Одновременно с этим наблюдалось нивелирование ПП при $3683,6 \text{ см}^{-1}$ и уменьшение интенсивности ПП при 3687 см^{-1} , которое свидетельствует об уменьшении количества «свободных» фенольных групп в опытных растениях (ОР). В интерпретируемом спектре также отмечалось выравнивание плеча 3018 см^{-1} у ПП 2977 см^{-1} , обусловленного антисимметричным (as) валентным колебаниям связей $\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ ароматического цикла, а также появление ПП - 2943 и 2902 см^{-1} , подтверждающих симметричные валентные колебания $\nu_s\text{CH}_3$ и $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$. В спектре фенольной фракции экстрактов пшеницы отмечались также характеристические ПП алкилрезорцинолов, лигнина (1629 и 1392 см^{-1}), феруловой и кумаровой кислот (1637 , 1630 , 1449 и $\sim 1214 \text{ см}^{-1}$), флавоноидов (1440 , 1321 , 1247 и 759 см^{-1}).

Следует отметить, что в спектрах исследуемых экстрактов ОР присутствуют ПП, характерные для колебаний ароматических структур, а в области колебаний двойных связей C=C - смещение ПП в ОР с 1606 см⁻¹ до 1634 см⁻¹. В тоже время, увеличение интенсивности ПП в области 1650-1450 см⁻¹ подтверждает наличие ароматических соединений с малой степенью замещения и внеплоскостных деформационных колебаний C-H при экспозиции растений НЧ Fe⁰. Отметим, что в области «отпечатков пальцев» наблюдались изменения интенсивности частоты ароматической группы arC-OH и плоскостные деформационные колебания свободной фенольной группы O-H в ОР. Следует отметить, что увеличение интенсивности ПП и небольшое смещение его максимума в области 1200-1000 см⁻¹ говорит о наличии в составе экстрактов кето-эфирных соединений и о валентных колебаниях C-O-C-связей. Итак, результаты проведенных исследований свидетельствуют о модификациях молекул экстрактивных веществ из проростков пшеницы под воздействием НЧ Fe⁰ в виде смещения характеристических ПП в ИК спектре.

Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда проект №14-36-00023.

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ПРИ ПОРАЖЕНИИ ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКОЙ НЕМАТОДОЙ

Лаврова В.В., Матвеева Е.М.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

VVLavrova@mail.ru

Вопросы взаимодействия растений с патогенными организмами находятся в центре внимания современных исследований. Особый интерес представляет паразитарная система «растение – фитопаразитическая нематода», функционирование которой в значительной степени зависит от направленности физиолого-биохимических изменений в организме растений при заражении. В связи с этим целью работы являлось изучение роста, развития и основных физиологических процессов растений при нематодной инвазии. Исследование проводили на модельной паразитарной системе «картофель – картофельная цистообразующая нематода». Материалом для исследования служили растения *Solanum tuberosum* L. (с. Невский), в качестве биотического фактора – заражение растений узкоспециализированным корневым эндопаразитом картофеля *Globodera rostochiensis* Wollenweber, 1923, Behrens, 1975, патотип Ro1, принадлежащего к числу наиболее серьезных и экономически важных вредителей, внесенного в международный список карантинных организмов. Результаты исследования показали, что заражение нематодой не оказало влияния на скорость развития растений, но вызвало угнетение роста надземной части, что привело к изменению соотношения биомасс наземных и подземных органов в сторону увеличения доли корней. Реакции основных физиологических процессов растения на заражение были вызваны особенностями развития паразита и его влиянием на растительный организм. На ранних этапах онтогенеза нематоды (эндодермальный этап), когда паразит характеризуется полной метаболической зависимостью от хозяина, у растений были выявлены изменения в работе фотосинтетического аппарата: отмечено повышение содержания хлорофиллов (преимущественно за счет хлорофилла *a*), высокая фотохимическая активность реакционных центров фотосистемы II. В тоже время показатели устьичной проводимости и транспирации имели низкие значения. При переходе паразита к процессу размножения (эктодермальный этап), когда снижается его трофическая зависимость от хозяина, было отмечено негативное влияние заражения на основные физиологические процессы: были снижены показатели фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции, содержания пигментов, интенсивности фотосинтеза, а также продуктивности растений, ухудшались качественные и количественные характеристики урожая. Таким образом, полученные данные позволяют выявить особенности взаимоотношений растений и нематоды, что может играть существенную роль в разработке способов интегрированной системы защиты растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ №15-04-04625

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА CYCD3 И СОДЕРЖАНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА И ОКСИДА АЗОТА В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ГРЕЧИХИ С РАЗНОЙ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Лугманова А.Ф.

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

AnisaLugmanova@gmail.com

Пролиферация клеток – это сложно программируемый процесс, зависящий как от внутренних, так и внешних стимулов. Под действием различных ростовых факторов инициируется каскад событий, включающих активацию киназ и транскрипционных факторов, которые модулируют экспрессию генов, взаимодействуя с их промоторами или изменяя активность трансактиваторов или трансрепрессоров. Одним из известных регуляторов пролиферации клеток и клеточного цикла у растений является циклин D3. С другой стороны, известно, что в регуляции ростовых процессов могут принимать участие активные формы кислорода и азота. Каллусные культуры, различающиеся по митотической активности и гормонозависимости, являются удобной моделью для изучения взаимосвязи между содержанием фитогормонов, редокс-статусом и пролиферативной активностью. Целью данной работы заключалась в выявлении взаимосвязи между экспрессией гена клеточного цикла CYCD3, ростовыми процессами и редокс-статусом клеток неморфогенных каллусов гречихи, различающихся по гормонозависимости. Обнаружено, что привес сырой биомассы и митотический индекс гормонозависимого каллуса был в 2 раза выше по сравнению с культурой, растущей в отсутствие экзогенных гормонов. Выявлено, что экспрессия гена CYCD3 в гормонозависимом каллусе в 3-5 раз выше по сравнению с гормононезависимой культурой. Усиление экспрессии гена CYCD3 предшествовало увеличению митотического индекса в обеих культурах. В гормонозависимом каллусе увеличение содержания перекиси водорода сопровождается нарастанием митотической активности, начиная с 4-х суток культивирования, что позволяет говорить о стимулирующем влиянии перекиси водорода на пролиферативную активность. Однако при дальнейшем культивировании содержание перекиси водорода продолжает увеличиваться, что вероятно обусловлено ее участием в растяжении клеток, размер которых возрастает после 4-х суток пассажа. В гормононезависимом каллусе, увеличение митотической активности также сопровождается увеличением содержания перекиси водорода, однако при дальнейшем культивировании митотическая активность и содержание перекиси водорода резко снижаются. Это позволяет говорить о том, что в гормононезависимом каллусе перекись водорода участвует только в стимуляции пролиферации клеток, но не в их растяжении. В культуре, выращиваемой на среде без добавления гормонов, содержание NO в 2,5 раза выше, чем в культуре, растущей на среде с гормонами. Такие различия могут быть следствием, как в особенностях метаболизма азота, так и в различном уровне фитогормонов в клетках гормонозависимого и гормононезависимого каллусов.

ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И УРОВНЯ АФК В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННЫХ КУЛЬТУР РАСТЕНИЙ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

**Любушкина И.В.^{1,2}, Федяева А.В.¹, Степанов А.В.¹, Побежимова Т.П.¹,
Рихванов Е.Г.¹**

¹ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,

²ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

estel_86@mail.ru

Температура является одним из важнейших абиотических факторов среды, определяющих рост и развитие растений. Повышенные и пониженные температуры, выходящие за пределы температурного оптимума, могут вызвать необратимые изменения метаболизма растительных клеток и привести к их гибели. Как и при действии многих других стрессовых факторов, одним из следствий нарушений нормального метаболизма при температурном стрессе является

интенсивное образование активных форм кислорода (АФК), главными источниками которых в растительной клетке, наряду с митохондриями, являются хлоропласты. Использование гетеротрофных культур растительных клеток позволяет исключить вклад хлоропластов в генерацию АФК и выявить ключевые изменения митохондриального метаболизма, приводящие к гибели клеток в данных условиях. Данная работа проводилась на суспензионных культурах озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), сахарного тростника (*Saccharum officinarum* L., сорт РОJ2878, линия, устойчивая к аноксии) и арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L., экотип Columbia). Было выявлено, что действие как повышенных (50 °С), так и отрицательных (-8 °С) температур, вызывающих гибель клеток в суспензионных культурах, приводит к значительному усилению образования АФК в клетках. Можно предположить, что причиной интенсивной генерации АФК в данных условиях является усиление интенсивности дыхания клеток, наблюдаемой в тот же период. Повышение активности дыхания происходит, главным образом, за счет усиления транспорта электронов по основному, цитохромному пути, а вклад альтернативного пути увеличивается на более поздних этапах гибели клеток. Использование флюоресцентного красителя JC-1 для визуализации электрохимического потенциала на внутренней митохондриальной мембране позволило выявить взаимосвязь между повышением уровня АФК в клетках и гиперполяризацией внутренней мембраны митохондрий. Это служит подтверждением наших предположений о том, что митохондрии представляют один из основных источников АФК в клетках гетеротрофных суспензионных культур в условиях температурного стресса.

ВЛИЯНИЕ ЛАНТАНОИДОВ НА ВОДНУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Мирзиев С.И.¹, Сибгатуллин Т.А.², Воробьев В.Н.^{1,2}

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ФГБУН Казанский институт биохимии биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

mirziev.sammat@yandex.ru

В настоящее время существуют удобрения на основе солей лантаноидов, уже применяемые в сельском хозяйстве некоторых странах и регионов. С одной стороны, имеются данные, что растения, выращенные на этих удобрениях, проявляют повышенную устойчивость к холоду, к засухе и к проникновению различных токсикантов. Проницаемость мембраны для воды под действием лантаноидов может измениться, также как и для растворённых в ней токсикантов. С другой стороны, бесконтрольное использование лантаноидов в качестве удобрений или их бесконтрольный сброс и утилизация могут привести к неблагоприятным последствиям для окружающей среды, так как их влияние на организмы полностью не изучено.

Цель данной работы: изучить влияние солей лантаноидов на проницаемость клеточной мембраны на примере клеток водного растения *Elodea densa*.

В работе, для определения проницаемости мембраны, использовалось два метода:

ЯМР-диффузометрия. Диффузионные измерения проводились на стеблях с использованием трехимпульсной методики стимулированного спинного эха, на импульсном ЯМР-анализаторе «СПИН ТРЭК» (Resonance Systems Ltd., Йошкар-Ола) с резонансной частотой на протонах (H1) 19 МГц.

Световая микроскопия. Добавляя тяжёлые металлы (ТМ) в межклеточное пространство листьев, отслеживали динамику их проникновения внутрь клетки (при предварительной обработке солей лантаноидов на мембрану) по интегральным показателям.

В качестве изучаемых лантаноидов были выбраны La, Lu, Nd, Pr в концентрациях 1 и 10 мМ.

Для определения вклада аквапоринов и липидного бислоя в изменении суммарной проницаемости, использовали блокаторы аквапоринов с различным механизмом действия (хлорид ртути и пропионовая кислота).

На основе коэффициентов диффузии были получены данные о проницаемости для плазматических мембран. При блокировании аквапоринов измеряемое значение проницаемости мембран уменьшалось по сравнению с контролем. При этом присутствие лантаноидов приводило к дополнительному уменьшению проницаемости.

Метод световой микроскопии показал зависимость между изменением скорости ротационного потока хлоропластов и проникновением из наружного пространства клетки ТМ. При высоких концентрациях ТМ ротационный поток полностью останавливается через 60 минут экспозиции, предварительная обработка образцов солями лантаноидов увеличило время экспозиции для ТМ.

Результаты подтверждают предположение об уменьшении проницаемости липидного бислоя плазматической мембраны при присутствии солей лантаноидов в межклеточном пространстве растительных клеток.

РЕГУЛЯЦИЯ РАЗМЕРА АНТЕННЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПРИ ПОВЫШЕНИИ ОСВЕЩЕННОСТИ РАСТЕНИЙ

Борисова-Мубаракшина М.М., Ветошкина Д.В., Любимов В.Ю., Федорчук Т.П., Козулева М.А., Найдов И.А., Руденко Н.Н., Иванов Б.Н.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

mubarakshinamm@gmail.com

В ходе фотосинтеза происходит не только выделение молекулярного кислорода (O_2), но и поглощение молекул O_2 вследствие их восстановления переносчиками фотосинтетической электрон-транспортной цепи, расположенной в тилакоидных мембранах хлоропластов. В результате восстановления молекул O_2 образуются активные формы кислорода (АФК). Хлоропласт является одним из главных источников АФК в растениях на свету. В наших работах было показано, что пул пластохинона, липофильный переносчик электронов в электрон-транспортной цепи, существенно вовлечен в восстановление кислорода до H_2O_2 . Образование H_2O_2 в этом случае происходит в результате реакции между молекулами супероксидного радикала и молекулами пластогидрохинона в тилакоидной мембране.

Известно, что окислительно-восстановительное состояние пула пластохинона регулирует размер антенного светособирающего комплекса фотосистемы 2 (ССК2). Регулирование размера ССК2 – один из механизмов адаптации растений к изменению освещенности. При повышении освещенности растений происходит уменьшение размера ССК2, что защищает фотосинтетический аппарат от фотоингибирования. Однако до сих пор остается невыясненной молекулярная природа сигнала, поступающего из пула пластохинона и инициирующего эти адаптационные изменения. Нами было предположено, что таким сигналом могут служить молекулы H_2O_2 , образованные с участием пула пластохинона.

В работе изучена взаимосвязь между окислительно-восстановительным состоянием пула пластохинона, размером ССК2 и количеством пероксида водорода в листьях растений ячменя. Было обнаружено, что искусственное увеличение количества пероксида водорода в листьях приводило к уменьшению размера ССК2 при низкой интенсивности света; при этом размер антенны был сопоставим с таковым в листьях растений, выращенных при высокой интенсивности света. Обнаружено, что уменьшение размера ССК2 под действием H_2O_2 происходит за счет подавления транскрипционного этапа биосинтеза периферических белков, которые, согласно литературным данным, участвуют в регулировании размера ССК2. Изменений в биосинтезе других белков ССК2 при повышении концентрации пероксида водорода в листьях не наблюдалось. Квантовый выход фотосистемы 2 на свету, характеризующий эффективность работы фотосинтетической электрон-транспортной цепи, был выше в листьях, содержащих повышенное количество пероксида водорода.

Повышение освещенности растений в условиях понижения уровня H_2O_2 в листьях путем их инкубации в среде в присутствии каталазы, фермента, разлагающего пероксид водорода, не приводило к уменьшению размера ССК2, наблюдаемого в отсутствие каталазы. Последнее согласуется с ранее опубликованными данными.

Полученные в работе данные свидетельствуют, что, вероятно, именно молекулы H_2O_2 обеспечивают связь между окислительно-восстановительным состоянием пула пластохинона и размером ССК2 при повышении освещенности растений.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Нилова И.А., Репкина Н.С.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

im-ira@mail.ru

Любые отклонения температуры окружающей среды от оптимальной для роста растений вызывают у них те или иные физиологические, биохимические и молекулярные изменения, часть из которых носит защитно-приспособительный характер. Учитывая это, целью данной работы явилось изучение особенностей динамики теплоустойчивости, ростовых процессов и перекисного окисления липидов (ПОЛ) у растений пшеницы при действии на них высоких температур разной интенсивности: 33, 37 и 43°C.

Опыты проводили с недельными проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Теплоустойчивость растений оценивали по температуре (ЛТ₅₀), вызывающей гибель 50% палисадных клеток листа после 5-минутного прогрева листовых высечек в водном термостате. Для измерения ростовых показателей использовали общепринятые методы. Уровень ПОЛ определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА).

В результате исследований установлено, что температуры 33 и 37°C оказывают качественно однотипное влияние на теплоустойчивость проростков – ее увеличение, которая по достижению максимального уровня (на 2-е сутки) в дальнейшем уже не изменяется. При этом температура 37°C вызывала более выраженный прирост теплоустойчивости. Воздействие температуры 43°C приводило к изменению характера динамики теплоустойчивости проростков: первоначально происходил ее быстрый рост, который затем сменялся резким ее снижением, после чего наблюдалась гибель растений. Кроме того, действие температур 33 и 37°C вызывало замедление роста растений. В частности, отмечено торможение роста растений на 50% и 90% при 33 и 37°C, соответственно. Все исследуемые температуры вызывали также изменения в содержании МДА. Так, воздействие температуры 33°C приводило к понижению уровня МДА через 4 часа от начала опыта, которое сохранялось до конца эксперимента. В отличие от этого, при температуре 37°C отмечено повышение уровня МДА через сутки, сохраняющееся в течение 3 суток, а действие температуры 43°C приводило к достаточно быстрому увеличению уровня МДА уже через 4 часа от начала эксперимента.

Полученные данные позволяют заключить, что характер ответной реакции растений на действие высокой температуры варьирует в зависимости от ее интенсивности не только количественно, но и качественно.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТОПОЛЕЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В МОСКВЕ В СВЯЗИ С ИЗУЧЕНИЕМ СИСТЕМАТИКИ РОДА

Орехова Е.

ФГБОУ ВПО Московский государственный гуманитарный университет им.

М.А. Шолохова, Москва, Россия

lenalabor@gmail.com

Актуальность исследования: тополя в Москву завозили из разных регионов мира. Также широко проводилась селекционная работа по получению новых сортов.

При совместном их произрастании тополя скрещивались между собой с образованием гибридов. Однако описания этих сортов и гибридов обычно не приводятся или они весьма поверхностны. В связи с этим выяснение систематической принадлежности тополей Москвы осложняется.

Цель работы:

- идентификация видов и гибридов секции бальзамических и черных тополей, произрастающих в Юго-Западном административном округе Москвы в следующих районах: Академический, Обручевский, Черёмушки;

- оценка их декоративности и пригодности использования в озеленении.

Общее количество обнаруженных тополей – 1955 шт.

Было обнаружено, что на территории Юго-Западного округа почти половина тополей - это тополь Разумовского, который представлен в основном женскими особями и треть от общего числа занимает тополь сибирский, представленный только женскими особями.

В результате были сделаны следующие выводы:

Секция черные тополя представлена тополем дельтовидным и внутрисекционным гибридом - тополем канадским, секция бальзамические тополя - тополем Симона. Остальные тополя относятся к межсекционным гибридам.

Межсекционные гибриды можно разбить на две группы. Одни межсекционные гибриды широко используются в озеленении, размножаются в питомниках черенкованием и имеют бинарные названия. Другие встречаются в основном на неблагоустроенных территориях в единичном числе и выросли из семян в результате спонтанной гибридизации.

Наибольшее распространение имеет тополь Разумовского, причем практически на всех обследуемых улицах Юго-Западного округа (около половины от всего количества тополей), а за ним идет тополь сибирский (около трети от всего количества тополей) и тополь невский (8%).

Менее распространенными являются тополь роцтерский (4%), тополь берлинский (1,5%), тополь канадский (1%), тополь Симона (0,7%), тополь дельтовидный (0,5%) а тополь Вобста вообще встретился в единственном экземпляре.

Тополь сибирский представлен только женскими особями, тополь Разумовского практически только женскими; тополя Симона, роцтерский, дельтовидный – только мужскими, тополь петровский практически только мужскими; тополя невский и канадский и мужскими, и женскими.

Наиболее высокие декоративные качества имеют тополя: канадский, Симона, невский и берлинский. Тополь сибирский менее всех тополей пригоден для озеленения из-за более высокой частоты поражения болезнями (тополевой молью-пестрянкой) и из-за образования большого количества пуха.

РОЛЬ ФИЛЛОХИНОНА В ПРОЦЕССАХ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА В ФОТОСИСТЕМЕ I

Петрова А.А.¹, Босхомджиева Б.К.², Козулева М.А.³

¹ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, ²ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва;

³ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

draparnaldia@gmail.com

Фотосистема I (ФС I) – важнейший фотосинтетический пигмент-белковый комплекс, катализирующий светозависимый перенос электрона от восстановленного пластоцианина или цитохрома *c₆* к ферредоксину или флаводоксину. В состав реакционного центра ФС I входит 6 молекул хлорофилла, 2 молекулы филлохинона и три железо-серных кластера. Одним из наиболее интересных кофакторов переноса электрона является филлохинон не в последнюю очередь благодаря тому, что в 2001 году был получен и охарактеризован цианобактериальный мутант *menB* у которого прерван биосинтез филлохинона и в соответствующий сайт связывания встраивается пластохинон. Он, в свою очередь, может быть в водной среде легко замещен другими хинонами.

Ранее было показано, что из-за непрочности связывания порядка 30 % выделенных комплексов не несут пластохинона в сайтах связывания. С помощью прямого электрометрического метода мы продемонстрировали, что добавление децилпластохинона приводит к значительному увеличению амплитуды сигнала, что свидетельствует о том, что дицилпластохинон занимает пустующие сайты связывания. Кроме того, нами впервые была зарегистрирована дополнительная электрогенная фаза в субмиллисекундном временном диапазоне, которую мы приписываем переносу электрона с хинонного акцептора на железо-серные кластеры.

В тоже время, замещение пластохинона на 2,3-дихлор-1,4-нафтохинон приводит полной остановке переноса электрона на уровне хинонного акцептора, что было продемонстрировано нами методом импульсной спектродетекции. Это объясняется тем, что редокс потенциал

данного хинона таков, что дальнейший перенос электрона на железо-серные кластеры становится энергетически невыгодным и происходит рекомбинация электронов на P_{700} .

Использование *menB* открывает широкие возможности для изучения роли хинонного акцептора в процессах переноса электрона в ФС I. В частности, нами были получены свидетельства в пользу участия хинонного акцептора в восстановлении кислорода комплексами ФС I. В наших экспериментах мы сравнили скорости восстановления кислорода комплексами ФС I, выделенными из мутанта *menB* и дикого типа. Нами было показано, что при низких интенсивностях света скорости восстановления кислорода обоими типами комплексов близки. Однако с ростом интенсивности света скорость восстановления кислорода возрастает гораздо быстрее в ФС I из дикого типа, чем из мутанта *menB*. Эти данные указывают на возможное участие филлохинона в этом процессе.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА КАТАЛАЗ РИСА (*ORYZA SATIVA L.*) ПРИ АНОКСИИ И ПОСЛЕДУЮЩЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Приказюк Е.Г., Емельянов В.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

prikaziuk@mail.ru

Активные формы кислорода зачастую являются одной из причин гибели растения, не устойчивого к неблагоприятным факторам окружающей среды. Наиболее долгоживущая из активных форм – перекись водорода. Она не самая реактивная, но может проходить через мембраны органоидов и клеток, а в кислой среде превращаться в гидроксидный радикал. Лучше нейтрализовать перекись до подобного превращения, что и делает фермент каталаза (К.Ф. 1.11.1.6).

Целью данной работы было изучить изменение экспрессии генов, кодирующих каталазы риса, когда растение находилось в среде с нормальным содержанием кислорода, в среде без кислорода (аноксия), и возвращалось после аноксии в среду с нормальным содержанием кислорода (пост-аноксическая реэрация).

Исследования проводились на побегах и корнях десятидневных проростков риса. Анализ экспрессии генов проводился методом qRT-PCR. Уровень экспрессии рассчитывался по методу $2^{-(\Delta\Delta CT)}$, ген сравнения - *OsbTub2*.

Анализ всех трёх генов каталаз показал, что в побеге гены экспрессировались в целом интенсивнее, чем в корне. Также можно отметить, что как в побеге, так и в корне ген *OsCat1* (каталаза А) вносил очень незначительный вклад в суммарную экспрессию каталаз.

В побегах независимо от сроков аноксии экспрессия генов каталаз повышалась, в корнях же после 24-часовой и 72-часовой аноксии экспрессия каталаз уменьшалась, а после возвращения в среду с нормальным содержанием кислорода уже через час уровень экспрессии принимал исходное значение.

Таким образом, корни и побеги риса по-разному приспособлены к повышению числа активных форм кислорода. Побеги отвечают ростом экспрессии каталаз. Корни, по-видимому, хуже приспособлены (или в меньшей степени подвергаются действию окислительного стресса) и либо на время аноксии, либо на весь период эксперимента понижают экспрессию каталаз.

Подобные исследования должны пролить свет на устойчивость живых организмов и определить слабые места в ответных реакциях неустойчивых видов.

МОБИЛЬНЫЕ ФРАКЦИИ УГЛЕВОДОВ КАК РЕЗЕРВ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ЗЕРНОВОК

Синенко О.С., Парасочка И.В., Подопрigorина С.И.

ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России
Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

olga_sinenko@list.ru

Отложение запасных веществ в зерновке у ячменя происходит, главным образом, в период от молочной спелости до восковой включительно. В эти же периоды происходит отмирание листьев нижних и средних ярусов и, следовательно, снижение фотосинтетической активности целого растения. За счет чего в этом случае происходит накопление запасных веществ в эндосперме зерновок?

Растения ячменя *Hordeum vulgare L.* сорта «Дина», выращенные в открытом грунте мелкоделяночным способом в период трубкования были «подкормлены» $^{14}\text{CO}_2$. О распределении фотоассимилятов, синтезированных в этот период, в разных частях растения на поздних этапах онтогенеза судили по радиоактивности органов.

Показано, что с возрастом радиоактивность растения уменьшалась, главным образом, за счет потери ^{14}C в результате дыхания. При этом наибольшее снижение радиоактивности наблюдали в листьях за счет оттока из них ^{14}C -ассимилятов в другие органы и затрат на дыхание. Доля листьев как основных фотосинтезирующих органов в общей радиоактивности растения составила 83% в фазу трубкования, 23% в фазу колошения, 5% в фазу полной спелости зерновок. Одновременно происходил рост радиоактивности соломины и колоса: 18% в фазу трубкования, 54% в период колошения, 94% в фазу созревания зерновок. Факт накопления в зрелых зерновках ^{14}C -соединений свидетельствует об использовании в процессе их формирования ассимилятов, образованных растением ранее в фазу трубкования. Наиболее активно процесс накопления ^{14}C -соединений происходил в период между стадиями молочной и молочно-восковой спелости. Вероятно, в этот период, когда листья и ости и чешуи колоса теряют фотосинтетическую активность, соломина становится основным донором пластических веществ, для созревающих зерновок. Доказательством этого служит корреляция между потерей радиоактивности соломины и пропорциональным ростом радиоактивности зерновок в период от молочной до полной спелости.

МУТАЦИЯ *TENDRILLED ACACIA-A* ИЗМЕНЯЕТ РАЗВИТИЕ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ ЛИСТА У ГОРОХА (*PISUM SATIVUM L.*)

Синюшин А.А., Аверчева О.В., Кривошеева И.А., Аш О.А., Хартина Г.А.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

asinjushin@mail.ru

Регуляция морфогенеза растений - актуальная область исследования в биологии. Для хозяйственно ценных объектов каждая новая морфологическая мутация также оценивается с позиций практической значимости. Таким объектом является горох посевной (*Pisum sativum L.*).

Охарактеризованы особенности проявления мутации *tendrilled acacia-A* (tac^A), которая возникла как спонтанная (мутант "Pac") у сорта гороха Батрак во ВНИИЗБК (г. Орел). Сорт Батрак характеризуется "усатым" листом (мутация *af*). У двойного мутанта *af tac^A* образуются листовые пластинки сложной формы. В листе также присутствуют усики, и новый фенотип оценивают как перспективный с увеличенной ассимилирующей поверхностью, устойчивый к полеганию. Оценивали фотосинтетические особенности линии "Pac" (*af tac^A*) по сравнению с исходной формой (сорт Батрак, *af TAC^A*) и одиночного мутанта (*AF tac^A*), полученного от скрещивания "Pac" с линией дикого типа (*AF TAC^A*).

Растения выращивали при контролируемых температуре и освещении до 29 дней. Для оценки фотосинтетической функции определяли площадь фотосинтетической поверхности, содержание фотосинтетических пигментов и параметры флуоресценции хлорофилла.

Общая площадь листьев была выше у "Pac" (*af tac^A*), чем у исходного сорта Батрак. У сорта Батрак большая часть фотосинтетической поверхности образована прилистниками, которые крупнее, чем у "Pac". Усики также вносят заметный вклад в фотосинтетическую поверхность.

Содержание фотосинтетических пигментов в листочках линии с генотипом *AF tac^A* было выше, чем в усиках растений сорта Батрак, и было близко к таковому в листочках "Pac", т.е. строение фотосинтетического аппарата в необычных листочках "Pac" ближе к нормальным листочкам, чем к усикам. Исследование флуоресценции хлорофилла показало, что в возрасте 13-14 дней фотосинтетический аппарат листочков "Pac" работает эффективнее, чем у усиков Батрака, однако к возрасту 27-29 дней теряет это преимущество.

У двойного мутанта формируется больше устьиц на прилистниках, чем у исходного сорта, что может указывать на пониженную устойчивость к водному дефициту. Особенности транспирации у сравниваемых форм были также изучены в ходе работы. Предпринята попытка идентификации мутации *tac^A*. Показано, что ортолог предполагаемого гена-кандидата *FUSED COMPOUND LEAF* не косегрегирует с фенотипом.

Можно предварительно заключить, что новый фенотип двойных мутантов *af tac^A* перспективен с точки зрения интенсивности ассимиляции, но, вероятно, в узком диапазоне доступности воды.

Благодарим д. с.-х. н. А.Н. Зеленова (ВНИИЗБК) за предоставленный для работы материал.

ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ПО ПРОИСХОЖДЕНИЮ ФОРМ ВИНОГРАДА НА РАЗВИТИЕ *PLASMOPARA VITICOLA*

Сундырева М.А., Колмыков А.Е.

ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия

taurim2012@yandex.ru

Физиологический ответ растения на воздействие патогена начинается с восприятия стрессового сигнала, что активирует развитие набора механизмов устойчивости растения. Длительность и скорость наступления каждой из фаз иммунного ответа растений определяется биологией паразита и хозяина и является видоспецифичной.

Целью работ было выяснение роли различных физиолого-биохимических компонентов иммунного ответа в интенсивности поражения винограда милдью у различающихся по устойчивости форм.

При увеличении интенсивности развития милдью накопление ресвератрола у форм ТАНА 33 и ТАНА 68 в большей степени происходило в непораженных листьях, о чем свидетельствует более высокая степень корреляционной связи данных показателей в непораженных листьях, чем в больных. У устойчивой формы ТАНА 42 в ответ на поражение патогеном ресвератрол образовывался в больных листьях. Связь между развитием милдью и накоплением хлорогеновой кислоты больше в пораженных листьях у формы ТАНА 68, у формы ТАНА 33 хлорогеновая кислота накапливалась в основных листьях. У растений устойчивой формы ТАНА 42 накопление хлорогеновой кислоты в ответ на развитие патогена происходило в равной степени в основных и больных листьях, однако, коэффициент корреляции имел средние значения.

Накопление аскорбиновой кислоты в листьях винограда при поражении милдью может свидетельствовать о процессах, нивелирующих накопление АФК в фазу индукции иммунного ответа растений. У форм ТАНА 33 и ТАНА 68 этот процесс больше связан с пораженными листьями, а у устойчивой формы ТАНА 42 – с основными листьями. Данное явление может быть причиной сохранения нормального функционирования листьев (высокая эффективность первичных процессов фотосинтеза) и снижения распространения патогена по растению. Форма ТАНА 33, отличающаяся низкой устойчивостью к грибным заболеваниям, характеризуется накоплением ресвератрола и хлорогеновой кислоты в непораженных листьях, что может свидетельствовать о слабом иммунном ответе в первичных очагах инфекции. Среднеустойчивая форма ТАНА 68 отличается активным накоплением хлорогеновой кислоты и, соответственно, более высоким уровнем лигнификации в пораженных листьях, т.е. можно предположить наличие активных структурных изменений клеточных стенок в ответ на

развитие патогена. У устойчивой формы ТАНА 42 в большей степени выражено накопление ресвератрола в пораженных листьях в процессе распространения милдью, что может говорить об активном локальном специфическом биохимическом ответе на биотический стресс.

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МЕМБРАН У ДРЕВЕСНЫХ ИНТРОДУЦЕНТОВ ТЕХНОГЕННО-ЗАГРЯЗНЕННЫХ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ Г.ТУЛЫ

Тимакова Е.В., Муравьева Ю.А., Толкунова Е.Ю., Горелова С.В.
ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет
им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия

timakova-93@mail.ru

При стрессовом воздействии у растений происходит целый ряд разнообразных изменений, которые приводят к внутриклеточным и тканевым функциональным нарушениям. Активация процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ), протекающего в норме на определенном стационарном уровне и необходимого в целом для жизнедеятельности, является одной из наиболее ранних реакций на действие стрессора. Повышение скорости ПОЛ приводит к серьезным повреждениям мембран. Продукты ПОЛ и карбонильные соединения, например, малоновый диальдегид, обладают сильным повреждающим действием на процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях, нарушая структурную целостность мембран.

Оценка степени ПОЛ в древесных интродуцентах урбанизированной экосистемы проводилась по методу Heath, Packer (1968) определением окрашенного комплекса, образовавшегося при взаимодействии тиобарбитуровой кислоты с МДА при длине волны 532 нм. Пробы листьев растений отбирались в середине июля (период активной вегетации) в средней части кроны растений, произрастающих вдоль основных автомагистралей города Тулы, характеризующегося геохимическими аномалиями почв и интенсивным загрязнением воздушной среды тяжелыми металлами. Анализ проводился в день исследования на свежем растительном материале.

Нами определено содержание продуктов перекисного окисления липидов у 14 видов лиственных кустарников – интродуцентов и 15 видов голосеменных интродуцентов.

Как показали результаты исследования, уровень ПОЛ у древесных интродуцентов колеблется в пределах от 0,3 до 6,1 нмоль/г сырой массы. Самым высоким уровнем ПОЛ характеризовались листья *Physocarpus opulifolius Diabolo*, самым низким - *Berberis thunbergii Golden Ring*; среди хвойных наиболее высоким уровнем ПОЛ характеризовалась *Thuja occidentalis* (0,9-1,8 нмоль/г), что может служить одной из причин развития некротических повреждений хвои и выпадений особей вида из зеленых насаждений. Самый низкий уровень ПОЛ отмечен для *Juniperus scopulorum Skyrocket*. Самым высоким уровнем ПОЛ среди исследованных видов характеризовались: *Amelanchier ovalis* (4,1 нмоль/г), *Berberis vulgaris Atropurpurea* (3,3 нмоль/г), *Berberis thunbergii Harlequin* (2,9 нмоль/г) и *Crataegus sanguinea* (2,8 нмоль/г). Среднее значение уровня ПОЛ у лиственных кустарников – интродуцентов составило 2,4 нмоль/г сырой массы, у хвойных – 0,9 нмоль/г сырой массы, что свидетельствует о большей стабильности эволюционно более древних форм – *Gymnospermae*.

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ И БЕРЕЗЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИН СИНТЕТАЗЫ GS1 ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА РАЗЛИЧНОМ АЗОТНОМ ФОНЕ

Фасхийев В.Н.^{1,2}, Лебедев В.Г.¹, Шестибратов К.А.²

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

vfaskhiev@ya.ru

Глутаминсинтетаза является ключевым ферментом азотного обмена растений и повышение ее экспрессии может привести к ускорению роста растений. Целью нашей работы являлась оценка скорости роста трансгенных растений осины и березы, содержащих рекомбинантный ген GS1 цитозольной формы глутаминсинтетазы из сосны обыкновенной. Растения четырех генотипов березы (*Betula pendula*, *B. pubescens* и *B. nigra*) и трех генотипов осины (*Populus tremula*) были выставлены в сосудах на открытую площадку весной 2014 года. Всего было высажено 15 клонов осины (около 300 растений) и 21 клон березы (около 500 растений). В течение периода вегетации проводились подкормки с различным содержанием азота (0, 1 и 10 ммоль/л). В ходе эксперимента определяли динамику роста (высота, диаметр ствола и количество листьев), а также содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов. В зависимости от генотипа трансгенные растения осины были выше по сравнению с контролем на 15-22%. У растений березы вместе с усилением роста на 13-63% наблюдали и ослабление (до 26% ниже контроля). Высота растений при подкормках 0 и 1 ммоль/л азота была схожей, но существенно возростала при выращивании на 10 ммоль/л азота. Различия между трансгенными и контрольными растениями на максимальной концентрации азота были выражены в меньшей степени.

Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в растениях осины составило 0.58 – 0.94; 0.20 – 0.39; 0.16 – 0.58 мг/г сырого веса, соответственно; в растениях березы – 0.65 – 1.26; 0.24 – 0.50; 0.24 – 0.31 мг/г сырого веса, соответственно. Более высокое содержание хлорофилла в трансгенных растениях (повышение до 21%) не получило статистического подтверждения. Между генотипами березы одного вида (*B. pendula*) достоверных различий не было, для генотипов двух других видов (*B. pubescens* и *B. nigra*) содержание хлорофилла было существенно выше. Для одного генотипа осины содержание хлорофиллов было существенно выше, чем у других, несмотря на принадлежность к одному виду. Азотный фон не оказал какого-либо влияния на содержание хлорофилла в растениях осины. На растениях березы повышение доступности азота приводило к повышению содержания хлорофилла у некоторых клонов, причем в максимальной степени это было выражено у контрольных растений.

Трансгенные растения березы были также обработаны гербицидом «Basta», содержащим фосфинотрицин, ингибирующим активность глутаминсинтетазы. Дозы были эквиваленты 2.5 и 5 л/га. Анализ содержания аммонийного азота в обработанных растениях показал повышение устойчивости к низкой дозе гербицида у двух из пяти трансгенных линий.

ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ИОНООБМЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ТИЛАКОИДАХ *ARABIDOPSIS THALIANA* ВЫЯВЛЯЮТСЯ ДВА МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ НОСИТЕЛЯ КАРБОАНГИДРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

Федорчук Т.П.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

fedor4uk.t@gmail.com

Карбоангидразы (КА) – ферменты, катализирующие реакцию обратимой гидратации углекислого газа. В последние годы получены данные свидетельствующие о наличии, по крайней мере, трех КА, связанных с тилакоидной мембраной. Одна из которых расположена вблизи фотосистемы 1 (ФС1), и две – вблизи фотосистемы 2 (ФС2).

После ионообменной градиентной хроматографии (носитель - Toyopearl DEAE 650M), обработанных детергентом, тилакоидных мембран, было установлено, что при концентрациях NaCl 100-300 мМ и 550-850 мМ в геле, после проведения нативного электрофореза, выявляются полосы, свидетельствующие о присутствии КА. Элюаты, содержащие фрагменты мембран в установленных границах концентраций NaCl обозначили как «низкосолевая» и «высокосолевая» фракции, соответственно. При анализе в тех же условиях тилакоидных мембран, содержащих только ФС1 КА выявлялась только в «высокосолевой» фракции.

Подтверждение того, что КА активности «низкосолевой» и «высокосолевой» фракций принадлежат разным белкам, было получено после осаждения белков исследуемых фракций ацетоном с последующим проведением аффинной хроматографии (носитель - агароза с иммобилизованным мафенидом, ингибитором КА). Обнаруженные белковые полосы, обладающие КА активностью после нативного электрофореза имели разную электрофоретическую подвижность.

Кроме того, элюаты после аффинной хроматографии были исследованы с помощью липофильного специфического ингибитора КА этоксизоламида (EZ). КА активность белков «низкосолевой» фракции полностью подавлялась уже в концентрации 10^{-9} М, что соответствовало обнаруженной ранее высокой чувствительности КА активности ФС2-мембран к EZ, тогда как снижение КА активности белков «высокосолевой» фракции было незначительным (примерно на 30%).

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА И ГЛУТАТИОНА У КОНТРАСТНЫХ ПО ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Фенько А.А., Репкина Н.С., Таланова В.В.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

angelina911@ya.ru

Низкая температура является одним из основных неблагоприятных факторов окружающей среды, на который растения реагируют целым комплексом различных адаптивных реакций. В связи с этим, целью работы было изучение влияния низких температур на содержание низкомолекулярных защитных соединений (пролина и глутатиона) у отличающихся по своей холодоустойчивости растений – холодостойкого (пшеница) и теплолюбивого (огурец).

Недельные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Московская 39 подвергали действию закалывающей температуры (4°C) в течение 7 суток, а огурца (*Cucumis sativus* L.) с. Зозуля – закалывающей (12°C) и повреждающей (4°C) температур в течение 3 суток. О холодоустойчивости пшеницы судили по температуре, вызывающей гибель 50% палисадных клеток листа (ЛТ50) после тестирующего промораживания, а огурца – по выходу электролитов из клеток листьев. Содержание свободного пролина анализировали методом Бейтса, уровень глутатиона – методом ВЭЖК.

Установлено, что при действии температуры 4°C на проростки пшеницы наблюдается постепенное увеличение устойчивости клеток к промораживанию уже в начальный его период (5–24 ч) с выходом на плато на 6–7-е сутки. Повышение устойчивости коррелировало с аккумуляцией пролина, максимальное содержание которого наблюдалось на 6–7-е сут. Обнаружено также, что содержание глутатиона в листьях пшеницы повышается в начальный период действия температуры 4°C, а в дальнейшем постепенно снижается, тем не менее, даже на 6–7-е сутки его уровень остается довольно высоким.

При действии температуры 4°C на проростки огурца уже через сутки наблюдалось значительное увеличение выхода электролитов по сравнению с контролем, что указывает на их повреждение. Наряду с этим резко повышалось содержание свободного пролина. В отличие от этого, воздействие температуры 12°C на проростки огурца приводило к постепенному снижению выхода электролитов. Содержание пролина при закалывающей температуре повышалось, но его величина была ниже, чем при повреждающей температуре.

Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение устойчивости как холодостойких, так и теплолюбивых растений при действии низких температур связано с

аккумуляцией пролина и глутатиона, которые играют важную роль в механизмах адаптации за счет антиоксидантных свойств и способности стабилизировать субклеточные структуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-31676–мол_а).

ИЗУЧЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРИОБРЕТЕННЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ РОДА *NICOTIANA* ОТ АГРОБАКТЕРИЙ

Хафизова Г.В., Матвеева Т.В.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

galina.khafizova@gmail.com

Agrobacterium tumefaciens и *A. rhizogenes* вызывают развитие на растениях трансгенных опухолей и бородачатых корней в результате переноса фрагмента своей плазмиды (Т-ДНК). Ранее была обнаружена последовательность, гомологичная Т-ДНК агробактерий, в геноме растения *Nicotiana glauca*, не подвергавшегося инфекции. Позже подобные последовательности, названные клТ-ДНК (клеточная Т-ДНК), были найдены и у других представителей рода *Nicotiana*. У исследованных видов вставка различается по длине и по составу онкогенов. Часть генов экспрессируется, вызывая изменение соотношения фитогормонов в растении, что влияет на протекание процессов регенерации и опухолеобразования. На сегодняшний день известно, что вставки были приобретены от разных штаммов, но данные о количестве актов агробактериальной трансформации отсутствуют. В своей работе мы ставили задачу сравнить сайты интеграции Т-ДНК у *N. tabacum* и *N. glauca*, далеко отстоящих друг от друга в древе рода *Nicotiana*. В ходе работы были подобраны сочетания праймеров для анализа пограничной с Т-ДНК последовательности в геномах *Nicotiana*. На матрице *N. glauca* была поставлена ПЦР с праймерами к растительной части последовательности, и к Т-ДНК. Анализ ПЦР-продукта с помощью электрофореза показал, что в ходе реакции нарабатывается ампликон ожидаемого размера. Полученный с ПЦР-продукта сиквенс подтвердил, что нарабатывается клТ-ДНК *N. glauca*. Проведение подобной реакции на матрице *N. tabacum* схожих результатов не дало. Также были поставлены ПЦР на этих же растительных матрицах с другим сочетанием праймеров, подобранных к растительным участкам по краям сайта вставки. В ходе реакции на ДНК *N. glauca* фрагмент не нарабатывался, так как вставка имеет большую протяженность, а в ходе реакции на матрице *N. tabacum* нарабатывался короткий фрагмент, что подтверждает отсутствие вставки в этом месте в геноме *N. tabacum*. Таким образом, данная тест-система позволила определить, что места интеграции у двух изучаемых видов различны, что может служить ещё одним доводом в пользу предположения о нескольких актах агробактериальной трансформации в ходе эволюции рода *Nicotiana*.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-04-01480 А, темпланов СПбГУ 1.39.315.2014, 0.37.526.2013. с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

ПОЛУЧЕНИЕ КДНК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МИКРОРНК, ИНДУЦИРУЕМЫХ СОЛЕВЫМ СТРЕССОМ У ГАЛОФИТА

Шувалова Е.Ю.^{1,2}, Шувалов А.В.³

¹ФГАОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград;

²ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,

³ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

Hritova_Katia@mail.ru

МикроРНК представляют собой разновидность регуляторных РНК длиной в 20-24 нт. Комплементарно связываясь с мРНК-мишенью, они регулируют экспрессию на пост-транскрипционном уровне. Их регуляторный потенциал может быть широко применим в биотехнологии растений. Анализ изменения набора микроРНК в галофитах при солевом

стрессе позволяет лучше понять механизмы их адаптации. Знание этих механизмов может быть использовано в биотехнологии для разработки стрессоустойчивых сортов культурных растений.

Для получения кДНК библиотеки микроРНК нами была выделена тотальная РНК из галофита *Suaeda altissima*, выращенного в условиях 750мМ засоления NaCl. Затем тотальная РНК была обогащена фракциями малых РНК осаждением в PEG 8000. Электрофоретическое разделение РНК было проведено в денатурирующем полиакриламидном геле, после чего элюированные из геля фрагменты ~ 20 нт. лигировались с 3' и 5' адапторами. кДНК, полученные на матрице малых РНК, были амплифицированы и клонированы в вектор pGEM®-T Easy. Полученные на селективной среде с ампицилином колонии *E.coli* скрининговали на наличие нужной вставки, затем плазмиды с положительным сигналом секвенировали.

С полученными последовательностями проводится биоинформатический анализ по определению их гомологии с известными микроРНК в других видах растений. Несмотря на то, что шпилечная структура широко распространена в геномах эукариот и не является уникальной особенностью микроРНК, высокая консервативность этих регуляторных РНК может дать информацию об их генах-мишенях. Дополнительно планируется проанализировать последовательности на присутствие других типов эндогенных малых РНК и продуктов деградации мРНК и структурных РНК.

Для уточнения полученных данных предполагается провести повторное создание библиотек микроРНК с их последующим секвенированием. Библиотеки предполагается создавать при разных уровнях стрессовых воздействий на растения для определения наиболее полной номенклатуры микроРНК исследуемого объекта. После определения максимально полного набора микроРНК, планируется проведение количественного определения различных микроРНК.

ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА ДОНОРНОЙ СТОРОНЕ ФОТОСИСТЕМЫ 2

Яныкин Д.В., Хоробрых А.А., Климов В.В.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

ya-d-ozh@rambler.ru

Обсуждаются пути взаимодействия молекулярного кислорода с компонентами донорной стороны фотосистемы 2. В фотосистеме 2 осуществляются ключевые реакции фотосинтеза – преобразование энергии возбуждения хлорофилла в энергию разделённых зарядов, в результате чего образуются самый сильный биологический окислитель P680⁺⁺, который может участвовать как в процессе окисления воды, так и в формировании активных форм кислорода на донорной стороне фотосистемы 2.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Московской области в рамках научного проекта «14-44-03680 p_центр_a» и грантом Президента Российской Федерации МК-3890.2015.4.

СЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ»

ECOLOGY AND BIOLOGY OF TERMITES (ISOPTERA) IN THE KHOREZM REGION OF UZBEKISTAN

Allaberganova K.S.

Urgench State University, Urgench, the Republic of Uzbekistan

a_komila91@mail.ru

The ecology and distribution of termites were investigated in irrigated and arid land in the Khorezm region (Republic of Uzbekistan). Collections along a transect as well as plot-based studies revealed the occurrence of two species, *Anacanthotermes turkestanicus* (Jaobson) and *Anacanthotermes ahngerianus* (Jaobson). The first species (*A. turkestanicus*) has a wider distribution, covering deserts, irrigated zones and settlements, whereas *A. ahngerianus* is found in Khazarasp-Pitnak-Shavat region. The Turkestan termite *Anacanthotermes turkestanicus* (Isoptera: Hodotermitidae) is a major pest of wooden structures including some of the sites of cultural heritage in Central Asia. This species is reported to have damaged 31 of the 57 historic monuments located in Khorezm province of Uzbekistan. *A. turkestanicus* makes underground nests with extensive network of tunnels extending as far as 17m. In summer the termites stay in chambers 20-25cm deep whereas in winter they move to depths of 150-250cm. Foraging is above ground and termites collect material from dried up remains of both wild and cultivated plants. Adjoining colonies interact with each other and inter-colonial aggression is rare. Examination of 12, 1-3 year old colonies revealed that they ranged in size from 1700-9200 individuals with 3.7-6.4% soldiers. Mature colonies may have as many as 20,000 individuals. No primary reproductive pairs were found in any of the colonies examined but neotenic were common. Alates start forming in late August and swarming takes place from late March through early May, depending on weather conditions. Screening of over 40 plant species revealed that camel's thorn, maize, sorghum and sunflower stems were most preferred for feeding by the termites. The material was collected during field trips made from Mart to October 2012-2013, along the route Khiva-Yangiaryk-Urgench-Khanka-Khazarasp-Pitnak-Shavat-Kushkupir.

СОСТОЯНИЕ *PINUS SYLVESTRIS* L. И *BETULA PENDULA* L. В ЛЕСОПАРКОВОЙ ЗОНЕ О. ЯГРЫ ПРИМОРСКОГО РАЙОНА АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Абакумова Е.В., Бедрицкая Т.В.

ФГАОУ ВПО Северный (Арктический) федеральный университет им.

М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия

dginnii@rambler.ru

С изменением городской среды постоянно повышается рекреационная активность горожан. Наиболее остро эта проблема стоит в благоустроенных зонах отдыха. Лесопарк «Ягры» является важнейшей частью зеленой зоны г. Северодвинска и имеет статус особо охраняемой территории местного значения. Он расположен между Двинским заливом Белого моря и р. Ягоркой.

В составе древостоя лесопарка встречаются сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), береза повислая (*Betula pendula* L.) и единично осина обыкновенная (*Populus tremula* L.). В качестве объектов исследования ними были выбраны преобладающие виды.

Исследования проводились в течение 2012-2014 гг. Рассматривались следующие показатели: флуктуирующая асимметрия, наличие хлорозов и некрозов у березы повислой, у сосны обыкновенной – продолжительность жизни хвои, наличие повреждений (%), диссимметрия побегов и шишек. Проанализировано более 500 листовых пластинок, более 3000 шт. хвоинок, 1000 шт. шишек.

Результаты исследований не выявили существенного изменения в состоянии рассматриваемых видов. Средняя продолжительность жизни хвои у сосны составляет 4,4 года. Исследование диссимметрической изменчивости показало преобладание левых форм у шишек и побегов. На участках с преобладанием правой формы шишек доля соснового подроста

значительно выше. Можно предположить, что шишки с правой диссимметрией дают больше полнозернистых всхожих семян. Преобладание левой формы диссимметрии шишек сохраняется у подростка в виде левой диссимметрии побегов ($r \pm m_r = 0,98 \pm 0,012$; при $t = 84,5$).

Общий процент повреждения листовых пластинок березы и хвои сосны незначительный и составляет менее 1 %. Единично встречаются нарушения образования хлорофилла в листьях (хлорозы) и отмирания отдельных участков листа (некрозы). Оценка флуктуирующей асимметрии листовой пластинки березы позволила отметить незначительные отклонения параметров среды, которые не успели привести к заметному снижению жизнеспособности особей в сообществе. Средний балл оценки качества среды составил 2,3. Наиболее устойчивым признаком является величина угла между главной и второй от основания жилкой ($X \pm m_x = 44,9 \pm 0,16$, град.; $V = 5,61\%$). Наибольшая флуктуация отмечается по признаку величины длины второй жилки ($X \pm m_x = 0,03 \pm 0,002$, см; $V = 83,6\%$).

Таким образом, состояние древесных растений в лесопарковой зоне о. Ягры удовлетворительное. Для поддержания его на высоком уровне следует нормировать и регулировать рекреационную и природоохранную деятельность на территории лесопарка.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ УРБАНОСРЕДЫ НА АКТИВНОСТЬ САХАРАЗЫ В ЛИСТЬЯХ *POPULUS PYRAMIDALIS*

Антонюк А.Ю., Чемаркин Д.А., Симонова З.А.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный технический университет им.
Гагарина Ю.А., Саратов, Россия

senuaantonuk@mail.ru

В последнее время в городах все более актуальными становятся вопросы, связанные с ростом, развитием и функционированием зеленых насаждений в условиях негативного воздействия. В ответ на различное неблагоприятное влияние в растениях происходят изменения в основных метаболических процессах, в частности – в углеводном обмене. Важную роль в метаболизме углеводов играет гидролитический фермент – сахараза (К.Ф.3.2.1.48), которая необратимо гидролизует сахарозу с последующим включением моносахаров в гликолиз и дыхательный метаболизм. Активность сахаразы в значительной степени может регулироваться стрессовыми факторами среды.

Цель работы заключалась в определении активности сахаразы в листьях *Populus pyramidalis* в условиях городской среды.

Районы исследований определялись по результатам химических анализов атмосферного воздуха и располагались в местах оживленного транспортного движения и вблизи крупных промышленных предприятий г. Саратова. В качестве фоновый участка использовался район, находящийся в 50 км от г. Саратова в северном направлении. В листьях определялась активность сахаразы йодометрическим методом.

Для *P. pyramidalis*, произрастающих на территории г. Саратова, характерна низкая активность фермента по сравнению с фоновой территорией (103 мкмоль инвертного сахара/(г ткани×ч)). Наиболее близкими значениями к фоновым обладали тополя, произрастающие в рекреационных зонах города. В районах городских автомагистралей и на территориях санитарно-защитных зон предприятий среднее значение активности сахаразы в листьях деревьев ниже фоновых значений в 2 и 4 раза соответственно. Для территории г. Саратова характерно четыре участка повышенного загрязнения тяжелыми металлами, причем максимальные концентрации металлов в этих зонах соответствуют территориям промышленных предприятий. Данное явление подтверждает тот факт, что значительное снижение активности инвертазы отмечается у деревьев, произрастающих на территориях санитарно-защитных зон предприятий, и обусловлено, прежде всего, действием тяжелых металлов.

Таким образом, в работе показано, что активность сахаразы в листьях *P. pyramidalis* существенно зависит от степени техногенной нагрузки городской среды. В рекреационных зонах ее значение практически соответствует фоновым. В зонах городских автомагистралей и санитарно-защитных зон предприятий отмечается ингибирование фермента, причем в большей степени на территориях с повышенными концентрациями тяжелых металлов.

ЭКОЛОГИЯ И СИНЕРГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ АГЕНТОВ, ГИПЕРТЕРМИИ И ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Бабина Д.Д., Евстратова Е.С.

ФГБУ «МРНЦ им. А.Ф. Цыба» Минздрава России, Обнинск, Россия

babinadd@gmail.com

Целью работы является выявление закономерностей синергического взаимодействия факторов окружающей среды. Синергические взаимодействия факторов окружающей среды является актуальной проблемой современной биологии и экологии. Объектом исследований были диплоидные дрожжевые клетки, – простейшие представители эукариотов. В качестве воздействующих факторов использованы ионизирующее излучение (^{60}Co), гипертермия и радиосенсибилизаторы, применяемые в клинической практике. Препараты присутствовали в момент облучения и в процессе пострадиационного восстановления. Показана высокая эффективность использованных химических агентов при их применении для повышения радиочувствительности клеток после их одновременного комбинированного действия с ионизирующим излучением и с гипертермией. Показано, что коэффициент синергического усиления для комбинированного действия блеоцина, сульфата меди и доксорубицина с ионизирующим излучением равняется 1,5 3,75 и 3,8 соответственно. Коэффициент синергического усиления для комбинированного действия цисплатина и гипертермии по мере увеличения действующей температуры сначала увеличивается, достигает максимума, затем уменьшается. Это означает, что синергическое взаимодействие гипертермии и химического агента наблюдается только в определенном температурном диапазоне, причем существует оптимальная температура, обеспечивающая максимальное синергическое взаимодействие. Комбинированное воздействие цисплатина с ионизирующим излучением, гипертермией приводит к увеличению необратимых повреждений, от которых клетки не способны восстанавливаться, но не влияет на вероятность восстановления в единицу времени. С увеличением термической нагрузки скорость восстановления уменьшается, но не из-за нарушения самого процесса восстановления, а из-за увеличения доли необратимых повреждений, от которых клетки не способны восстанавливаться.

Приведенные данные о синергическом взаимодействии различных физических и химических агентов с гипертермией подчеркивают существование оптимальных соотношений воздействующих агентов для обеспечения максимального синергического взаимодействия, а также зависимость синергизма от интенсивности применяемых агентов. Не исключено, что эти закономерности имеют общебиологическое значение, поскольку их проявление не зависит от применяемых биологических объектов и тестов, а также физических и химических агентов, используемых при комбинированных воздействиях, указывая на принципиальную значимость синергического взаимодействия вредных факторов окружающей среды при низких интенсивностях, реально встречающихся в биосфере.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ БУРЫХ УГЛЕЙ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ НА ПРИМЕРЕ ПШЕНИЦЫ

Берега С.А.¹, Ломовский А.И.¹, Фунтикова Т.В.²

¹ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет, Тула; ²ФГБОУ ВПО Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

sveta.bereza.94@mail.ru

В настоящее время одной из актуальных проблем сельского хозяйства является увеличение почвенного плодородия с помощью препаратов на основе природного сырья. Для разработки этих препаратов могут использоваться гуминовые вещества, так как они являются высокомолекулярными органическими соединениями, содержащие большое количество биологически активных соединений и не имеют отрицательного действия на растения при их применении. Химические препараты на основе гуминовых веществ являются наиболее востребованными, так как они при внесении в почву связывают тяжелые металлы, ядохимикаты и нефтепродукты, также они помогают растениям справиться с последствиями

неблагоприятных условий. Из-за уникального строения гуминовых веществ, они действуют непосредственно в клетке, т.е. изменяют проницаемость клеточных мембран и стимулируют процессы дыхания.

Целью данной работы являлось сравнительное изучение биологической активности бурых углей и гуминовых веществ шахт Львовской, Бельковской и Подмосковной.

Для определения биологической активности бурых углей и гуминовых веществ шахт Львовской, Бельковской и Подмосковной проводили измерение массы и длины ростков пшеницы, а также устанавливали всхожесть семян относительно контрольного опыта. Объектами исследования являлись зерна пшеницы, которые вносились в среду, обогащенную данными препаратами. Биологической активности на стадии восстановления увеличивается при определении по массе проростка от 16,7 до 28,6% и по длине проростка от 6,5 до 33,3% по сравнению с контрольным опытом.

Опыт проводили в одинаковых условиях, при предварительной пробоподготовке в течении десяти суток. По окончании опыта в образцах с препаратами бурых углей и гуминовых веществ наблюдалось улучшение параметров биологической активности в сравнении с контрольным опытом. Не во всех образцах с препаратами взошли ростки, но это могло зависеть как индивидуально от каждого из семян, так и от абиотических факторов. Так же было выявлено, что использование гуминовых веществ благоприятно влияет на рост и развитие растений. Препараты шахты Львовская показали наилучшие результаты, наблюдалось повышенное увеличение массы и длины проросших растений.

При дальнейшем изучении возможна разработка препаратов с наибольшей биологической активностью для использования их как удобрений в сельском хозяйстве, в том числе и в России.

РОСТ И ЛИПИДООБРАЗОВАНИЕ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОЧВ МОЛДОВЫ НА СИНТЕТИЧЕСКИХ И КОМПЛЕКСНЫХ СРЕДАХ

Березюк Ю.Н.

Институт микробиологии и биотехнологии АНМ, Кишинев, Молдавия

ulia203@mail.ru

Актиномицеты, в том числе и самая большая группа – представители рода *Streptomyces*, давно привлекают внимание специалистов различных областей биологии. Почва является тем природным субстратом, откуда их выделяют в наибольшем разнообразии. Стрептомицеты известны как продуценты физиологически активных веществ, используемых в медицине, ветеринарии (витамины, гормоны, ферменты, аминокислоты, липиды и др.). В связи с этим выявление новых штаммов актиномицетов, изучение их особенностей необходимо не только как источник теоретических знаний, но и для решения ряда проблем биотехнологии, медицины, сельского хозяйства.

Объектом исследований являлись 47 штаммов актиномицетов рода *Streptomyces*, выделенные из различных образцов чернозема центральной части Молдовы (гумус 2,4-6,8%). Виды большинства штаммов планируется определить в ходе дальнейшего исследования. Культуры поддерживали на агаризованных средах (ср. Чапека с глюкозой, Гаузе, овсяный агар). Для определения продуктивности биомассы и содержания в ней липидов штаммы культивировали на синтетических средах (ср. Чапека, Дюлоне) и комплексных (М-1- основной источник углерода и азота – кукурузная мука, среда R – основные источники углерода и азота – кукурузная мука и крахмал).

Проведенные исследования показали, что на комплексных средах сложного состава количество биомассы было в 2-3 раза больше, чем на «классических» синтетических средах практически у всех изучаемых штаммов. Так, например, у шт. 12 на комплексных средах количество биомассы было наименьшим - 4,6 и 5,6 г/л, а на синтетических – 3,8–4,0 г/л. У шт. 19 – 13,9–14,1 г/л - на комплексных средах и 2,3–4,8 г/л – на синтетических средах. У шт. 33 – 7,24–10,48 г/л – на комплексных средах и 3,72–4,1 г/л – на синтетических средах.

Состав среды в меньшей степени повлиял на содержание липидов в биомассе изучаемых штаммов. Так, например, у шт. 19 количество липидов на комплексных средах составило 12,1-12,6%, а на синтетических – 4,9–6,3%; у штамма 33 – на комплексных средах – 6,3–8,7 %, а на

синтетических – 5,0–8,4 %. Наибольшее количество липидов в биомассе было обнаружено у шт. 47, культивируемого на средах сложного состава –14,3–18,7%, а на синтетических средах – 7,3–8,4%.

Таким образом проведенные исследования показали, что штаммы стрептомицетов, выделенные из почв Молдовы, при культивировании на комплексных средах могут накапливать биомассу до 19,6 г/л, а содержание в ней липидов может варьировать от 5,0 до 18,7 %. На синтетических средах изучаемые штаммы образуют гораздо меньше биомассы, а липиды в ней составляют от 5,0 до 10,8%.

ЗООПЛАНКТОН УСТЬЕВОЙ ОБЛАСТИ МАЛОГО ПРИТОКА РАВНИННОГО ВОДОХРАНИЛИЩА И РЕАКЦИЯ ХАОТИЧЕСКИХ КВАЗИАТТРАКТОРОВ СООБЩЕСТВ В УСЛОВИЯХ КЛИМАТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ ЖАРКИХ ЛЕТ

Болотов С.Э.

БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», Сургут; ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Ярославская область, Россия

alhimikhmu@yandex.ru

Среди многообразия водных объектов бассейнов водохранилищ особое значение имеет изучение малых и средних рек, устьевые области которых формируют обширную площадь специфических пограничных участков. Однако сведения о гидробиологическом режиме устьевых областей притоков равнинных водохранилищ весьма ограничены, и к настоящему времени они оказались фронтиром между относительно изученными экосистемами водохранилищ и малых рек.

Цель работы – оценка изменений экологической структуры и параметров хаотических аттракторов сообществ зоопланктона устьевой области малого притока Рыбинского водохранилища в условиях погоднo-климатических аномалий.

Интегральные пробы зоопланктона собирали планктоботометром 1–2 раза в месяц с мая по октябрь фонового 2009 и аномально жарких 2010–2011 гг. в зоне свободного течения реки Ильдь, зонах ее устьевой области (IIА – переходная притока с преобладанием (90%-я обеспеченность) речных вод, IIВ – фронтальная, со значительными вертикальными градиентами и отчетливым расслоением минерализованных речных и опресненных водохранилищных вод, и IIС – переходная приемника с преобладанием водных масс водохранилища) и Волжском плесе Рыбинского водохранилища. Камеральную обработку проб проводили по стандартной методике. Сообщества зоопланктона характеризовали на основе комплекса 23-х экологически значимых параметров развития, рассчитанных в авторской запатентованной программе «FW-Zooplankton», реализующей также идентификацию параметров хаотических квазиаттракторов (КА), описывающих движение вектора состояния зоопланктоценозов в 23-х мерном фазовом пространстве синэкологических параметров.

Зоопланктон водной системы притока сложен весьма богатым (>250 видов) составом. Наибольшее видовое богатство и специфическая биоценотическая структура характерны для устьевой области притока и, особенно, ее фронтальной зоны. По сравнению с сообществами граничащих водных объектов устьевая область характеризуется наиболее высокими величинами удельного числа видов, численности, биомассы и продукции зоопланктона. Погодные термические аномалии приводят к нарушению фоновой структуры сходства видового состава зоопланктона зон устьевой области, снижению их фаунистической и биоценотической специфики. Максимальные значения параметров КА формируются в устьевой области притока, и особенно ее фронтальной зоне, зоопланктон которой отличается выраженной хаотичностью и которую по совокупности признаков (повышенному видовому богатству и развитию краевого эффекта) мы определяем как экотон. Параметры аттракторов сообществ обусловлены особенностями режима гидроэкологических зон и межгодовой метеорологической изменчивостью, а в условиях аномалий жарких лет сигнализируют о нарушениях в системе гомеостаза сообществ.

**НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА
ПАЛЕАРКТИЧЕСКОГО ВИДА АМФИПОД *GAMMARUS LACUSTIS SARS* ИЗ
ОЗ. ШИРА ПРИ ОСТРОМ И ГРАДИЕНТНОМ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТРЕССАХ**

**Верещагина К.П.¹, Шатилина Ж.М.¹, Аксенов-Грибанов Д.В.¹, Гурков А.Н.¹,
Задереев Е.С.², Тимофеев М.А.¹**

¹ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет; ²ФГБУН Институт биофизики
СО РАН, Иркутск, Россия

k.p.vereshagina@gmail.com

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния острого и градиентного повышения температуры среды на интенсивность энергетического метаболизма палеарктического вида амфипод *Gammarus lacustris* Sars из солоноводного оз. Ширы (республика Хакасия). Данный вид распространен в Палеарктике и способен обитать в широком диапазоне изменений окружающей среды, в том числе в широком диапазоне солёности. Однако на данный момент неясно, какие условия солёности являются предпочтительными для оптимального функционирования энергетического метаболизма у данного вида.

В ходе исследования проводили 2 типа экспериментов, в т.ч.: первый по экспозиции амфипод в условиях градиентного повышения температуры среды от контрольной (7°C) до температуры гибели 100% особей (33°C). Повышение температуры проводили со скоростью 1°C/ч. Второй тип экспериментов был направлен на экспозицию амфипод в условиях шокового воздействия температуры 30°C. При градиентной гипертермии в амфиподах измеряли динамику содержания молочной кислоты, глюкозы, гликогена и аденилатов через каждые два часа эксперимента (шаг- 2°C).

В случае экспериментов по оценке влияния шокового воздействия температуры 30°C, у амфипод измеряли содержание тех же метаболитов после 30 мин, 1, 3 и 6 ч экспозиции.

Результаты проведенного исследования указывают на то, что повышение температуры окружающей среды ведет к изменениям в энергетическом метаболизме и вызывает клеточные повреждения у амфипод вида *G. lacustris*. Как показано в работе, экспозиция палеарктического *G. lacustris* в условиях градиентного повышения температуры приводила к накоплению лактата и истощению запасов глюкозы в организме. Снижение содержания глюкозы может указывать на повышение интенсивности метаболизма и возрастающее расходование энергии в условиях температурного стресса (Pörtner, 2010). На угнетение физиологического и энергетического состояния у амфипод указывает увеличение лактата (на поздних сроках экспозиции).

Также при экспозиции амфипод в условиях градиентной гипертермии происходило изменение содержания аденилатов, что может говорить о перестройках метаболизма, необходимых для поддержания энергетического гомеостаза (Grieshaber et al., 1994; Chown et al., 2006).

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов МИНОБРНАУКИ РФ (ГЗ 1354–2014/51), РФФ (14-14-00400), CRDF (18237), РФФИ (14-04-00501, 15-04-06685), Германской службы академических обменов (DAAD) и ФГБОУ ВПО «ИГУ».

**СЕЗОННЫЕ И СУТОЧНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ В РАЗВИТИИ
ФИТОПЛАНКТОНА РЕКИ ГАВАРАГЕТ**

Гамбарян Л.Р., Мамян А.С., Степанян Л.Г.

НЦ зоологии и гидроэкологии НАН РА; Институт гидроэкологии и ихтиологии,
Ереван, Армения

a_mamyan@mail.ru

Мониторинг фитопланктона рек водосборного бассейна озера Севан (1900м НУБМ), способствует изучению эвтрофирования озера. Закономерности сезонного развития качественных показателей водорослей были подтверждены также динамикой суточных изменений. Одной из крупных рек водосборного бассейна является река Гаварагет (площадь водосбора 480км², длина 50 км) мониторинг фитопланктона реки, проводился начиная с 2008

по 2014 год. Известно, что планктонные водоросли, являются индикаторами загрязнения воды, а также характеризуют статус водоема. Изучение реки Гаварагет были проведены в период с 2008-2014 гг., пробы отбирались из устья реки. Для изучения суточной динамики фитопланктона, были отобраны пробы в сентябре, 2009 года. Сбор, консервирование и обработка водорослей проводились по стандартной методике, принятой в гидробиологии. Для выяснения видовой принадлежности водорослей использовались различные определители. Количественный анализ проб проводили в камере Нажотта ($V=0.1\text{мл.}$) при 3 кратном ее заполнении. Биомассу вычисляли на основании индивидуальных объемов клеток каждого вида фитопланктона в пробе. Удельный вес водорослей принимался за 1.

Выявлено, что в фитопланктоне реки Гаварагет присутствуют четыре группы водорослей: диатомовые, синезеленые, зеленые и желтозеленые. Многолетний анализ показывает, что доминантной группой являлись диатомовые водоросли (80%), субдоминантной – синезеленые (12%). Доминантными видами диатомовых водорослей были виды родов *Navicula*, *Cymbella*, *Pinnularia*, *Fragilaria*, *Diatoma*, *Melosira* и *Cocconeis*. Наибольшим разнообразием был представлен род *Navicula*, где было отмечено около 12 видов. Субдоминантной группой были синезеленые водоросли родов *Aphanothece*, *Spirulina*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* и *Microcystis*. Редко встречались зеленые водоросли (7%) родов *Oocystis*, *Botryococcus*, *Scenedesmus*, *Tetraedron*, а желто-зеленые водоросли представлены видом *Botridium sp.* По своей экологической классификации обнаруженные виды-бентосные водоросли, их сапробность была в пределах α - β мезосапробности, что соответствует средней степени органического загрязнения реки. Анализ суточной динамики, выявил доминирование диатомовых водорослей, по количественным и качественным показателям. Второй группой по значимости были синезеленые водоросли. Максимальные показатели численности и биомассы (648 тыс.кл/л и 3.2 г/м^3) зарегистрированы в 15 часов дня, а минимальные показатели (64 тыс.кл/л и 0.3 г/м^3), в полдень следующего дня. Пробы отбирались с интервалом в 3 часа.

Таким образом, фитопланктону реки Гаварагет, присуще доминирование диатомовых водорослей, как в сезонном, так и в суточном аспекте.

ИНТЕРЕСНЫЕ НАХОДКИ СОЛНЕЧНИКОВ В КОНТИНЕНТАЛЬНЫХ ВОДОЕМАХ РОССИИ

Герасимова Е.А.

ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет; ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

ea-ermolenko@yandex.ru

В работе представлены результаты фаунистических исследований и видового разнообразия центрохелидных солнечников Европейско-Азиатской части России.

Центрохелиды, или центрохелидные солнечники – крупнейший класс солнечников (Heliozoa), включающий на данный момент более 100 видов. Представители Heliozoa объединены наличием радиальной системы расходящихся лучей – аксоподий, снабженных экструсомами, которые служат для ловли пищи. Центрохелиды – амебоидные протисты, являющиеся пассивными хищниками. Они присутствуют в бентосе и перифитоне морских и пресноводных экосистем.

Распространение на территории России изучено крайне неравномерно, основные данные сводятся к северо-западным и центральным регионам Европейской части России. В связи с этим, целью работы стало изучение фауны центрохелид в регионах Европейско-Азиатской части России – Оренбургской области и республике Башкортостан.

В ходе исследований обнаружено 23 вида солнечников: *Heterophrys marina*, *Polyplacocystis ambigua*, *P. coerulea*, *Raphidocystis tubifera*, *Heteroraphidiophrys australis*, *Pterocystis foliacea*, *P. paliformis*, *P. pinnata*, *Raineriophrys erinaceoides*, *R. fortasca*, *R. raineri*, *Choanocystis ebelii*, *C. rotoairence*, *C. sp.*, *Acanthocystis myriospina*, *A. mylnikovi*, *A. taurica*, *A. olgashlestae*, *A. pectinata*, *A. polymorpha*, *A. turfacea*, *A. astrakhanensis*, *A. dentata*. Пять из описанных видов - *P. coerulea*, *H. australis*, *P. paliformis*, *C. ebelii*, *A. polymorpha* являются первыми находками в водоемах России. Фауна солнечников в водоемах Башкирии изучена впервые и составляет 11 видов - *P. ambigua*, *P. pinnata*, *R. erinaceoides*, *R. fortasca*, *C. sp.*, *A. myriospina*, *A. taurica*, *A. olgashlestae*,

A. pectinata, *A. polymorpha*, *A. turfacea*. В результате исследований видовой состав солнечников Оренбургской области пополнился на 14 видов и включает *H. marina*, *P. coerulea*, *R. tubifera*, *H. australis*, *P. paliformis*, *R. fortesca*, *R. raineri*, *C. rotoairence*, *A. mylnikovi*, *A. taurica*, *A. polymorpha*, *A. turfacea*, *A. astrakhanensis*, *A. dentata*.

Несмотря на наличие данных по фауне центрохелид Европейской и Азиатско-Европейской части России, оценивать их биологическое разнообразие на территории Евразийского материка довольно рано.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-14-00515, РФФИ №№ 14-04-00500-а, 14-04-00554.

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ РАСТВОРЕННОГО ОЗОНА НА НИТРИФИЦИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ АЭРОТЕНКА

Головинов В.В., Исмаилова Д.Н.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

nitocrida@rambler.ru

В процессе биологической очистки сточных вод более уязвима стадия нитрификации, поскольку в условиях аэрируемых сооружений биологической очистки невозможно создать идеальные условия для наиболее требовательной группы нитрификаторов. Терминальная стадия очистки зависит напрямую от полноты протекания процесса нитрификации, в связи с этим целью работы являлась интенсификация процесса нитрификации в условиях озонирования в малых дозах.

Объектом исследования являлось микробное сообщество активного ила очистных сооружений города Ростова-на-Дону. Эксперимент проводили в лабораторных условиях с использованием озонатора типа LF-V7. Микробоценоз активного ила поместили в одинаковые экспериментальные условия, равномерно продували кислородом. Два экспериментальных варианта подвергались озонированию, а третий служил контролем. Доза озона составляла 0,25 мг на литр исследуемой жидкости, в первом варианте подача озона осуществлялась разово, во втором каждый час в течение 4 часов. Интенсивность нитрификации учитывали по косвенным признакам, а именно скорости накопления нитритов в системе. Во всех трех пробах на период от начала эксперимента до момента окончания титр нитрификаторов не изменился и составлял $2,5 \cdot 10^5$ кл/мл.

По сравнению с контролем, результаты измерений показали, что концентрация нитрит-аниона в культуральной жидкости в первом варианте возросла в два раза с 0,075 мг/л до 0,156 мг/л, где во втором варианте с 0,075 до 0,145 мг/л. В контрольной пробе скорость накопления нитритов не изменилась, концентрация нитрит-аниона составляла 0,077 мг/л на протяжении всего эксперимента, что объясняется тем, что во время доставки проб активного ила с очистных сооружений в лабораторию, группа нитрифицирующих микроорганизмов претерпевала стресс, связанный с голоданием по кислороду, в этих условиях ферментативная активность была ингибирована и не восстановилась в ходе эксперимента.

Напротив, в исследуемых образцах после озонирования наблюдается усиление нитрифицирующей активности, что объясняется положительным действием малых доз озона на ферментативные системы микроорганизмов, а также то, что накопление некоторого количества токсичных форм кислорода в результате озонирования, повысило емкость антиоксидантной системы нитрификаторов, что привело к мобилизации основных метаболических путей исследуемой группы бактерий.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА В ПРОМЫШЛЕННЫХ РАЙОНАХ ГОРОДА ТУЛЫ

Горелова С.В.¹, Козлов С.А.¹, Толкунова Е.Ю.¹, Ляпунов С.М.², Горбунов А.В.²,
Окина О.И.², Фронтасьева М.В.³

¹ФГБОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет им.
Л.Н. Толстого, Тула; ²ФГБУН Геологический институт РАН, Москва; ³Объединенный
институт ядерных исследований, Дубна, Россия

gsvphysiology08@rambler.ru

Проведен анализ состояния атмосферного воздуха в наиболее загрязненных промышленных районах, на площадях и вдоль основных автомагистралей промышленно развитой урбоэкосистемы города Тулы. Всего в ходе проведения исследования проанализированы пробы воздуха 16 точек пробоотбора. Пробы в каждой точке отбирались трехкратно, в течение 1-1,5 часов на расстоянии 1,5 м от поверхности грунта. Анализ фильтров на содержание тяжелых металлов осуществлялся с применением двух методов физико-химического анализа - атомно-абсорбционной спектроскопии (прибор Квант 2А) и инструментального нейтронно-активационного анализа (ИБР-2) в лаборатории химико-аналитических исследований Геологического института РАН и Лаборатории нейтронной физики Объединенного института ядерных исследований.

При анализе состояния воздуха опытных зон выявлено высокое содержание железа во всех точках пробоотбора. Максимальной концентрацией элемента отличался воздух у комплекса предприятий ОАО Тулачермет, Ванадий и Оружейного завода 25-45 мкг/м³ и 55-61 мкг/м³ соответственно, что превышает ПДК среднесуточных концентраций для железа в составе оксидов и сульфатов в сотни раз. Концентрация меди была выше ПДК в 56 % случаев включая воздух Центрального парка культуры и отдыха и колебалась в пределах 3,4 - 9,8 мкг/м³, что выше среднесуточной ПДК в 1,5-3,3 раза; максимальной разовой ПДК - в 3-9 раз. Наиболее высокими концентрациями элемента отличались точки пробоотбора: ул. Мосина, проходные Оружейного завода, площадь Победы. Превышение концентрации цинка над ПДК на 50 % отмечено только в Щегловской засеке, которая находится в зоне влияния КБП, ОАО Тулачермет, Ванадий, Комбайностроительного завода. Концентрация свинца в воздухе превышала среднесуточную норму ПДК в трех точках пробоотбора: Косогорский металлургический завод, Могилевский сквер (эмиссия при производстве ферромарганца от КМЗ), центральная часть центрального парка (возле альпинария), что может быть обусловлено отсутствием растительности на данном участке и направлением распределения воздушных масс вдоль основных аллей парка, которое усиливает эмиссию от автодорог и центральных предприятий города.

Анализ полученных данных позволяет заключить, что обстановка по состоянию атмосферного воздуха в городе крайне неблагоприятная, характеризуется превышением ПДК тяжелых металлов 1-2 классов опасности, что может привести к резкому увеличению заболеваемости населения исследуемых районов города.

Исследование поддержано грантом РФФИ р_центр_a 13-05-97508.

ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА ЭНДЕМИЧНОГО БАЙКАЛЬСКОГО ВИДА АМФИПОД *EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS* НА ОСНОВЕ ФРАГМЕНТА ГЕНА ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ

Гурков А.Н.^{1,2}, Фернандес-Касас И.², Риварола-Дуарте Л.³, Бедулина Д.С.^{1,2},
Штадлер П.Ф.³, Котлов М.Ю.¹, Тимофеев М.А.¹, Люкенбах Т.²

¹НИИ биологии, ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет, Иркутск,
Россия; ²Центр экологических исследований им. Гельмгольца, ³Центр биоинформатики
университета Лейпцига, Лейпциг, Германия

a.n.gurkov@gmail.com

Озеро Байкал, крупнейший резервуар пресной воды на планете, населено чрезвычайно разнообразной фауной с высоким уровнем эндемизма. Поскольку эндемичные организмы, в

отличие от видов-убиквистов, зачастую узко приспособлены к условиям окружающей среды, изучение клеточных механизмов адаптации у байкальских эндемиков представляет особый интерес как для исследования процессов эволюции данных механизмов, так и для развития адекватных методов мониторинга озера Байкал. Наибольшего разнообразия в Байкале достигли бентосные амфиподы (Amphipoda, Crustacea), включающие более 350 эндемичных видов и подвидов и играющие важную роль в экосистеме озера. Одним из наиболее массовых видов эндемичных амфипод Байкала является литоральный *Eulimnogammarus verrucosus* – первый байкальский организм, чей геном был секвенирован. *E. verrucosus* и другие виды рода *Eulimnogammarus* являются перспективными модельными организмами для изучения особенностей молекулярных и биохимических механизмов адаптации к среде у байкальских эндемиков.

Однако, при исследовании фенотипической изменчивости клеточных механизмов адаптации у данных видов амфипод, важна информация о популяционной структуре изучаемых видов. По этой причине, целью данного исследования было изучение популяционной структуры *E. verrucosus* на основе фрагмента гена цитохромоксидазы *cox1*. Проанализированные образцы собраны в 20 точках прибрежной зоны озера, главным образом, на западном побережье. Для большинства точек сбора секвенированы фрагменты *cox1* длиной около 550 п.о. для не менее чем 10 индивидуумов не менее чем в двух повторностях. На основе полученных данных построена филогенетическая сеть в программе SplitsTree4.

Результаты указывают на существование не менее четырех популяций *E. verrucosus*. К популяции западного побережья озера Байкал могут быть отнесены точки сбора от п. Листвянка и до г. Северобайкальск, несмотря на внутрипопуляционные различия между точками сбора южнее и севернее Ольхонских Ворот. Важно отметить, что популяция о. Большой Ушканий также чрезвычайно близка к западной популяции. Точки сбора от порта Байкал и до г. Байкальск принадлежат южной популяции *E. verrucosus*. Две единственные точки сбора на западном побережье в районе п. Ключека, находящегося южнее дельты р. Селенга, и на полуострове Святой Нос оказались далеки как от западной, так и от южной популяций, а также друг от друга. Это может говорить о возможном наличии неизвестных разделяющих барьеров на юге и на севере западного побережья озера Байкал.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРОСПОРИДИЙ ГЕМОЛИМФЫ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД И ОДНОГО ПАЛЕАРКТИЧЕСКОГО ВИДА *GAMMARUS LACUSTRIS*

Димова М.Д.^{1,2}, Мадьярова Е.В.², Адельшин Р.В.^{2,3}

¹ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет; ²НИИ биологии, ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет; ³Иркутский НИПЧИ и ДВ Роспотребнадзора, Иркутск, Россия

Mariya.D.Dimova@gmail.com

В настоящее время описано около 187 родов и более 1300 видов микроспоридий, из которых почти половина заражают гидробионтов и около 50 родов инфицируют водных членистоногих. Озеро Байкал является самым глубоким и одним из древнейших озер на планете, и отличается богатой эндемичной фауной с преобладанием членистоногих. Амфиподы - доминирующая группа среди членистоногих Байкала, в озере представлены более чем 350 эндемичными видами. Байкальские амфиподы освоили практически все глубины и все типы субстратов. Возраст и географическая изоляция этой группы организмов создает возможность для изучения отношений между паразитом и хозяином, эволюции и генетического разнообразия паразита. Данные по микроспоридиям амфипод Байкала остаются неполными.

Нами было исследовано 15 видов байкальских эндемичных амфипод, а также один палеарктический вид *Gammarus lacustris* оз. Шира (Хакасия) и оз. на о. Юность (Иркутск). На предмет зараженности микроспоридиями, из гемолимфы амфипод выделяли суммарную ДНК. Амплификацию фрагмента гена малой субъединицы рДНК (мрДНК) проводили с универсальными для микроспоридий праймерами. В ходе работы было получено 23 нуклеотидных последовательности гена мрДНК длиной 653 п.н. для шести эндемичных байкальских амфипод: *Acantagammarus loppaceus longispinus*, *A. godlewski*, *Pallasea cancellus*,

Eulimnogammarus verrucosus, *E. cyaneus*, *E. marituji* и одного палеарктического вида – *G. lacustris*. В гемолимфе оставшихся девяти исследованных видов ДНК микроспоридий обнаружено не было. На основе полученных последовательностей с помощью программы Mega 6.1 построено филогенетическое древо.

По топологии древа было выявлено четыре отдельных кластера. Первый кластер объединил микроспоридий относящихся к роду *Microsporidium*¹, второй - род *Dictyocoela*, третий - род *Nosema* и четвертый - группу, объединяющую рода *Microsporidium*² и *Enterocytozpora*.

Следует отметить, что в гемолимфе палеарктического вида *G. lacustris* обнаружена только ДНК микроспоридий близкая к роду *Dictyocoela*, в то время как у байкальского эндемика *E. verrucosus* обнаружили ДНК сразу трех разных микроспоридий, относящихся к разным родам (*Dictyocoela*, *Nozema* и *Enterocytozpora*).

Таким образом, в ходе проведенного исследования впервые были обнаружены микроспоридии в гемолимфе байкальских эндемичных амфипод.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов: ГЗ-баз (1354–2014/51), ГЗ (к) (6.382.2014/К). Участие в конференции поддержано Фондом Михаила Прохорова «Академическая мобильность».

ПОИСК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ ПОЧВЕННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ЗОНЕ СУХИХ СТЕПЕЙ И ПОЛУПУСТЫНЬ

Дронова С.А., Темралеева А.Д.

ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт;
ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
Пушино, Россия

sonja.dronova@gmail.com

Цианобактерии представляют значительный интерес для биотехнологического использования за счет способности к фотосинтезу, азотфиксации, продукции экзополисахаридов, антибиотиков и др. Экстремальные экологические условия почв зоны сухих степей и полупустынь ограничивают активное развитие высшей растительности, но способствуют доминированию цианобактериальных сообществ. Их адаптационные механизмы могут использоваться для нужд биотехнологии. Целью исследования являлось выделение, описание и предварительный отбор перспективных штаммов почвенных цианобактерий зоны сухих степей и полупустынь. Почвенные пробы были стерильно отобраны из верхнего горизонта А1 каштановой почвы и солонца (зона сухих степей, Волгоградская обл.), а также бурой полупустынной почвы (зона полупустынь, Астраханская обл. и Республика Калмыкия). Для выделения разнообразия цианобактерий использовали культуральные приемы. Таксономическую идентификацию проводили методами световой и контрастной микроскопии.

Всего было обнаружено 9 видов цианобактерий в каштановой почве, 14 – в солонцах, 15 – в бурой полупустынной почве. В образцах каштановой почвы найдены цианобактерии *Komvophoron* sp., *Leptolyngbya* sp., *L. subtilissima*, *Microcoleus* sp., *Phormidium* sp.1, *Ph.* sp.2, *Planktolyngbya brevicellularis*, *Pl. limnetica*, *Pseudanabaena minima*. Для солонца солончаковатого мелкого характерны цианобактерии *Aphanocapsa incerta*, *L. edaphica*, *L. frigida*, *L. gracillima*, *L. nostocorum*, *Microcoleus autumnalis*, *M. vaginatus*, *Nostoc desertorum*, *N. edaphicum*, *N. microscopicum*, *N. punctiforme*, *Ph. aerugineo-caeruleum*, *Ph. papyraceum*, тогда как для солонца глубокосолончаковатого среднего только *P. minima*. Из бурой полупустынной почвы были изолированы *A. delicatissima*, *L. foveolara*, *L. sp.*, *L. subtilissima*, *Microchaete* sp., *M. vaginatus*, *N. commune*, *N. desertorum*, *N. punctiforme*, *Ph. autumnale*, *Ph. lusitanicum*, *Schizothrix lardacea*, *Synechocystis* sp., *Tolypothrix* cf. *fasciculata*, *T. sp.* Обнаруженные гетероцитные цианобактерии родов *Microchaete*, *Nostoc*, *Tolypothrix* способны к азотфиксации. Слизеобразующие штаммы родов *Aphanocapsa*, *Leptolyngbya*, *Microcoleus* и др. продуцируют экзополисахариды, а *N. commune*, с окрашенным слизистым чехлом, и каротиноиды. Кроме того, некоторые виды *Tolypothrix*, *Nostoc*, *Phormidium* выделяют фунгициды. Таким образом,

морфологическое описание помогает провести таксономическую идентификацию цианобактерий и предварительный отбор кандидатов в биотехнологически полезные штаммы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-04-31016 мол_а и 12-04-00385).

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ УРОВНИ ОСЛАБЛЕНИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ЗЕМЛИ

Емельянова М.С.

ФГБОУ ВПО Ижевский государственный технический университет им.

М.Т. Калашникова, Ижевск, Россия

ems1988@mail.ru

Естественное магнитное поле (МП) Земли является первичным экологическим фактором, постоянно воздействующим на состояние экосистем. На нынешнем этапе развития научно-технического прогресса происходят существенные изменения в естественном МП, повышающие интенсивность его воздействия.

Интерес к вопросу биологического действия слабых МП в настоящее время интенсивно возрастает. Обусловлен он, прежде всего, постоянно возрастающей нагрузкой на окружающую среду от электромагнитного загрязнения. Кроме того, в настоящее время нет систематизированных экспериментальных данных биологического действия МП разного уровня ослабления.

Эксперименты, как правило, состоят в наблюдении связи между характеристиками внешнего МП и вызванными им биологическими откликами. Промежуточные уровни организации живой системы: биофизический, биохимический и физиологический, оказываются за рамками эксперимента, но при этом сильно влияют на его результаты.

Отрицательное влияние ослабленного МП Земли изучалось на различных биологических объектах, в том числе на растениях, насекомых, крови человека и млекопитающих. Выявлено нарушение в работе некоторых систем организма животных.

Согласно нормативным документам, действующим на территории РФ значения предельно допустимого уровня (ПДУ) ослабления интенсивности геомагнитного поля не должно превышать двух на рабочем месте за смену и полутора в жилых и общественных зданиях и сооружениях.

Допустимые нормы ослабления МП Земли в помещениях для содержания животных не определены. Коэффициент ослабления в производственных и животноводческих помещениях не регламентируется. Недостаточно изучено влияние градиентного магнитного поля, которое является наиболее распространенным в урбанизированной среде. В РФ данный вид магнитных излучений не описан в СанПиН, соответственно не имеет предельно-допустимых норм. Учитывая неблагоприятные последствия пребывания живого биологического объекта в ослабленном до различных уровней МП, не трудно предположить, что его градиент также будет иметь свое влияние на онтогенез.

В данной работе ставилась задача определить ПДУ ослабления МП, при которых не происходит патологических изменений в живом организме. Полученные результаты показали, что данное ослабление не должно превышать двух раз относительно МП Земли. При более сильном ослаблении происходят структурные изменения морфологических, этологических, гематологических и ферментных показателей изучаемого биообъекта.

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю профессору Ломаеву Гелию Васильевичу за помощь в подготовке и проведении экспериментов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ШЛАМА НА РАСТЕНИЯХ СВЁКЛЫ САХАРНОЙ

Захарова О.В.¹, Гусев А.А.^{1,2}, Сенатова С.И.², Чупрунов К.О.², Кузнецов Д.В.²

¹ФГБОУ ВПО Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов;

²ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский технологический университет
«МИСиС», Москва, Россия

olgazakharova1@mail.ru

В РФ остро стоит проблема переработки металлургических отходов (шламов), миллионы тонн которых складываются в шламонакопителях. В то же время в их состав входят микроэлементы, необходимые для роста и развития растений, что делает перспективным использование шламов в агрохимии.

Целью исследования было изучение влияния высокодисперсного металлургического шлама на разные стадии онтогенеза свеклы сахарной (*Beta vulgaris L., var. Saccharifera*)

Химический состав шлама: Fe – 85,6 % масс., Zn – 8,3%, Ca - 2,4%, Al – 0,52%, Cu – 0,5%, Ni – 0,38% и др. элементы в незначительных количествах. Размеры частиц от 0,1 до 100 мкм.

Эксперименты проводились в лабораторных, тепличных и полевых условиях. В лаборатории и теплице брали дозы шлама 0,0001...10%, в полевых исследованиях, с учетом рекомендуемых норм внесения микроэлементов - 0,5, 2 и 4 т/га.

В ходе лабораторных экспериментов определяли энергию прорастания и всхожесть семян, а также массу растений. В тепличных и полевых опытах анализировали морфометрические показатели и показатели урожайности. Спектрофотометрически оценивали активность ферментов антиоксидантной системы и содержание пигментов. Накопление тяжелых металлов (ТМ) в тканях растений оценивали методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

В условиях лаборатории внесение шлама в культивационную среду не оказало достоверного влияния на показатели всхожести семян свеклы, но значительно повысило прирост биомассы.

В условиях теплицы показано существенное увеличение дружности всходов, массы корнеплодов и длины стеблей. Высокие дозы шлама оказывали ингибирующее действие на исследуемые показатели, за исключением всхожести, которая с увеличением концентрации возрастала. Минимальные дозы шлама снижали активность полифенолоксидазы, высокие – повышали. Активность пероксидазы практически не изменялась при низких дозах, но значительно повышалась при высоких. Активность каталазы изменялась не существенно. Максимальное содержание пигментов отмечено при средних концентрациях шлама.

В полевых исследованиях низкая и средняя дозы оказали стимулирующее действие на рост растений и формирование урожая, высокая - ингибирующее. Во всех вариантах возрастала продуктивность фотосинтеза. Активность ферментов антиоксидантной системы, за исключением супероксиддисмутазы, снижалась.

Превышения норм ПДК по ТМ в растениях и в почве не отмечено.

Таким образом, перспективными представляются дальнейшие исследования возможности использования металлургического шлама при выращивании свеклы в качестве агрохимиката.

Проект выполняется при поддержке Министерства образования и науки РФ.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ РОДНИКОВ ВОСКРЕСЕНСКОГО РАЙОНА МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Зубарева Е.В., Савоськина А.А.

ГБПОУ Колледж «Царицыно», Москва, Россия

anechka.savoskina@yandex.ru

Район производства минеральных удобрений ОАО «Воскресенские минеральные удобрения» и складирования фосфогипса под Воскресенском Московской области неизменно обращает внимание экологов, как район повышенных экологических рисков. Многочисленные заброшенные карьеры открытого способа добычи фосфоритов, законсервированный и действующий полигоны складирования фосфогипса определяют возможность загрязнения окружающей среды этого района, включая грунтовые воды, фтором,

не радиоактивным стронцием и тяжелыми металлами. Известно, что Воскресенский район относится к числу наиболее индустриально насыщенных. В качестве индикаторов загрязнения подземных вод могут быть использованы родники в связи с их исключительной чувствительностью к воздействию техногенных факторов. Отмечается, что используемые населением подземные воды подольско-мячковского водоносного горизонта имеют повышенную минерализацию, жесткость, содержание сульфатов, нитратов, стронция, что вызвано работой ОАО «Воскресенские минеральные удобрения». Целью работы было осуществление оценки качества воды наиболее популярных среди населения 13 родников в Воскресенском районе по показателям pH, минерализации, жесткости, содержания нитратов, ионов аммония, хлора, сульфатов и 25 элементов (Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, I, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Se, Si, Sn, Sr, V, Zn). В работе использовались методы ИСП-МС и ИСП-АЭС, а также флуориметрический метод для определения Se. Содержание F, NO₃, NH₄, Cl и K устанавливали с помощью ионоселективных электродов.

Показано, что работа ОАО «Воскресенские минеральные удобрения» не оказывает значительного влияния на химический состав воды родников. Уровень жесткость воды находился в пределах от 0,9 до 5, значения pH от 5,7 до 7,3, содержание Cl⁻ от 7 до 108 мг/л; F от 0,1 до 0,2 мг/л, Sr – от 0,07 до 0,51 мг/л, содержание тяжелых металлов много ниже ПДК.

Несмотря на то, что по данным отчетов Егорьевско-Воскресенский канализационный коллектор полностью реконструирован в 2009 году и не представляет угрозу окружающей среде, полученные нами данные свидетельствуют о превышении ПДК по аммоний в 10-20 раз в воде родников поселений Хорлово и Фосфоритный, в 8-118 раз в заповедной зоне района (родники Марьинки и Губино).

АНАЛИЗ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ЗАРАСТАЮЩИХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ УГОДИЙ АСКИНСКОГО РАЙОНА

Ибрагимов И.И., Петров С.С.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет,
Стерлитамак, Россия

6841073@mail.ru

В последние десятилетия резко усилилось влияние человека на экосистемы. Как следствие этого в современной науке о растительности как составляющей широкого междисциплинарного комплекса «экология» получил развитие подход восстановительной экологии (restoration ecology).

В настоящее время данные по биологическому, экологическому и синтаксономическому разнообразию сообществ вторичных лесов, сформировавшихся на заброшенных сельскохозяйственных угодьях в Южно-Уральском регионе отсутствуют. Поэтому изучение вторичных восстановительных сукцессий на залежах являются актуальными и представляет большой интерес как в теоретическом, так и в практическом отношении.

Материалом для настоящей работы послужили 25 полных геоботанических описаний, выполненных автором на зарастающем лесом поле Башкирского Предуралья в Аскинском районе в 3 км к юго-западу от д. Кубиязы. В них доминируют такие синантропные виды как *Hieracium vaillantii*, *Picris hieracioides* и *Agrostis tenuis*. Содоминантами выступают *Poa angustifolia*, *Hieracium onegense*, и др. Среднее проективное покрытие травяного яруса составляет 55%. В хорошо развитом травостое большое участие принимают луговые и опушечные виды классов *Molinio-Arrhenatheretea* R. Tx. 1937 и *Trifolio-Geranietea* Th Müller 1962 (*Vicia cracca*, *Galium album*, *Leucanthemum vulgare*, *Hypericum perforatum* и др.) и синантропные виды класса *Artemisietea vulgaris* Lohmeyer et al. ex von Rochow 1951 (*Omalotheca sylvatica*, *Stachys recta*, *Artemisia vulgaris* и др.).

С увеличением проективного покрытия древесного яруса до 60%, а, следовательно, и затенения, флористический состав травяного яруса начинает меняться, но незначительно. Покрытие травяного яруса при увеличении плотности древостоя снижается резко. Таким образом, можно констатировать, что на изученной залежи происходит массовое возобновление вторичных древесных пород и вытеснение из-под полога древостоя синантропно-лугового разнотравья. При этом затеняющее влияние древостоя на флористический состав сообществ и

проективное покрытие травяного яруса начинает существенно проявляться, когда проективное покрытие древостоя достигает 60%. В густом березняке со временем начнется процесс самоизреживания древесного яруса. На данный момент сложно прогнозировать, в каком возрасте флористический состав травяного яруса полностью сменится с лугового на лесной, но очевидно, что в результате восстановительной сукцессии будут формироваться вторичные березовые, сосновые или смешанные леса.

АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ ОХРАНЯЕМОГО ЛИШАЙНИКА LOBARIA PULMONARIA (L.) HOFFM. В ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВАХ МУЗЕЯ- ЗАПОВЕДНИКА «КИЖИ» И ЗАКАЗНИКА «КИЖСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ)

Игнатенко Р.В.¹, Мартьянов Р.С.², Тарасова В.Н.¹

¹ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет; ²Государственный историко-архитектурный и этнографический музей-заповедник «Киж»,
Петрозаводск, Россия

ocean-9@mail.ru

Музей-заповедник «Киж» – уникальный историко-культурный и природный комплекс, расположенный в юго-восточной части Республики Карелия на территории Медвежьегорского района. Главной жемчужиной музейной коллекции является ансамбль Кижского погоста – объект Всемирного наследия ЮНЕСКО. Охранная зона музея-заповедника «Киж» представляет собой вытянутую с северо-запада на юго-восток площадь, находящуюся на землях федерального заказника «Кижский». В состав ее входит значительное количество островов Кижского архипелага и часть восточного побережья Заонежского полуострова.

Сотни лет территория Заонежья была подвержена антропогенному воздействию. Лес широко использовался в строительстве, судостроении, изготовлении предметов крестьянского быта. Освобожденные от древесной растительности земли распахивались для выращивания сельскохозяйственных культур. В результате деятельности человека лесные сообщества Кижского архипелага серьезно пострадали. Большая часть старовозрастных еловых насаждений вследствие подсечного хозяйства была полностью уничтожена. Несмотря на это, в растительных сообществах, произрастающих в охранной зоне музея-заповедника «Киж» и на прилегающей к ней территории – Государственного природного заказника федерального подчинения «Кижский» можно обнаружить охраняемый во многих Европейских государствах лишайник *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. (*Lobariaceae*, *Ascomycotina*).

Исследования популяции данного вида лишайника были проведены в течение вегетационного сезона 2014 г. Сбор данных осуществлялся на 3 пробных площадях (100x100 м), заложенных в двух типах сообществ – ельниках черничных свежих и в ельниках кисличных. Давность нарушения обследованных сообществ составляет ~ 120-150 лет.

В результате анализа функционально-возрастной структуры популяции было установлено, что на исследуемой территории преобладают старые особи с регенеративными структурами – субсенильные (18%), сенильные (26%); в популяционном спектре низкая доля молодых талломов – стерильные (10%), гипосоредиозные (21%), мезосоредиозные (10%), гиперсоредиозные (6%); 11 % особей являются фертильными.

Площадь исследованных талломов варьирует от 6,25 до 1875 см², в среднем составляет 101,9 см². Вклад некротических частей в общую площадь талломов у разных экземпляров изменяется от 0 до 86% и в среднем составляет 10%.

Таким образом, популяция лобарии легочной на изученной территории является полночленной. Наличие фертильных талломов, вероятно, свидетельствуют о генетической гетерогенности популяции и перспективах ее устойчивого существования в будущем.

ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОЙ СТРУКТУРЫ И ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАЗМЕЩЕНИЕ СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА РЕКИ ЧАРА И ОЗЕРА ЧАРСКОЕ (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Ильин М.Ю., Жихарев В.С., Шурганова Г.В.

ФГАОУ ВО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

maxim_ilin@list.ru

Озеро Чарское – крупный карстовый водоем, расположенный в Ардатовском районе Нижегородской области, имеет площадь 31,2 га и максимальную глубину 16 м. Гидрологический режим озера уникален. Озеро имеет связь с подземными карстовыми полостями, куда в отдельные годы уходит значительная часть воды, и водоем заметно мелеет. Озеро формирует река Чара, которая относится к типу малых рек, ее протяженность 34 км и площадь бассейна 198 км².

Целью работы являлось выделение и характеристика особенностей видовой структуры зоопланктоценозов озера Чарского и реки Чара, которые ранее не были исследованы.

Материалом для работы послужили 15 проб зоопланктона, отобранных на озере Чарское и реке Чара в первой декаде июля 2014 г. Сбор и обработка материала проводилась общепринятыми в гидробиологических исследованиях методами. Для характеристики пространственного размещения зоопланктона использовался метод многомерного векторного анализа, для оценки сходства видового состава – индекс Сьеренсена.

Видовое богатство озера Чарское и реки Чара было представлено 68 видами (*Rotifera* – 32, *Cladocera* – 30, *Copepoda* – 6) зоопланктона. Большая часть видов (97% от общего числа) являются типичными и широко распространенными в пресных водоёмах умеренных широт. Были обнаружены коловратка *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) – вид-вселенец из Северной Америки, активно расселяющийся на территории европейской части России, а также *Holopedium gibberum* (Zaddach, 1855) – ацидофил, представитель холодноводной арктической фауны ветвистоусых ракообразных, занесенный в Красную книгу Нижегородской области (категория В2 – редкие виды, находящиеся на границе ареала).

Были выделены две дискретные области, занятые существенно различающимися по видовой структуре сообществами зоопланктона. Индекс сходства видового состава Сьеренсена двух выделенных сообществ был относительно низок – 51%. Первое сообщество занимало акваторию реки Чара и характеризовалось доминированием планктонной колониальной коловратки *Conochilus unicornis* (Rousselet, 1892), характерной не для речных сообществ, а для озерных и прудовых. Видовая структура зоопланктона обследованной акватории реки Чара оценивалась высокой степенью сходства. Второе сообщество, расположенное на акватории озера Чарское, определялось большей гетерогенностью видовой структуры по сравнению с первым сообществом. Доминировали планктонная коловратка *Kellicottia longispina* (Kellicott, 1879), а также науплиальные и копеподитные стадии веслоногих ракообразных.

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СНЕЖНОГО ПОКРОВА И ДРЕВОСТОЯ В ИМПАКТНОЙ ЗОНЕ КОМБИНАТА ОАО «СЕВЕРНИКЕЛЬ»

Исаева А.С., Кулеш К.М., Приймак П.Г.

ФГБОУ ВПО Мурманский государственный технический университет,
Мурманск, Россия

margunchik91@yandex.ru

Аэротехногенное воздействие выбросов комбината «Североникель» привело к деградации древостоя и накоплению значительных количеств поллютантов в почвах водных бассейнов. Количественно, среди поллютантов преобладают Cu, Ni, Co и целый ряд других тяжёлых металлов; из неметаллов – оксиды серы. Разрушение древесного яруса растительности в импактной зоне привело к сильным изменениям водного режима почв и, как следствие их эрозии.

Питание почв талыми водами во многом зависит от характера распределения снежного покрова, что определяется гористым рельефом изучаемого района и характером растительности.

Цель работы – исследование особенностей и характера распределения снежного покрова и древостоя в зоне аэротехногенного воздействия комбината ОАО «Североникель».

Первоначально исследование проводили в период снеготаяния в центральной части Кольского полуострова в импактной зоне комбината ОАО «Североникель» (г. Мончегорск). Закладывали 6 пробных площадей (апрель, 2014 г.) по трансекте с юга на север вдоль градиента техногенной нагрузки на расстояниях 45, 29, 19, 11, 7, 5 км от источника выбросов. На 1 и 5 км сформирована пустошь с группами кустообразных и низкорослых (2-3 м) форм берёз. С удалением от комбината возрастает высота (до 14 м) и доля участия хвойных в древостое. Глубину снежного покрова с 20-23 кратной повторностью определяли градуированным цилиндрическим пробоотборником. Отбор проб проводили в 4-5 кратной повторности на каждой площадке, помещая снег в герметичные пластиковые ёмкости объёмом 1 л. После ставания пробы взвешивали для определения плотности снега.

Распределение снежного покрова в понижениях и повышениях микрорельефа исследовали в декабре 2014 г. на 4-х пробных площадях на расстояниях 29, 7, 5 и 1 км от источника выбросов. На каждой площади глубину снега измеряли по 3 трансектам в 20-ти кратной повторности.

Средняя глубина снежного покрова в декабре 2014 г. постепенно увеличивается от 18,9 до 48,1 см в связи с выраженностью древесного яруса при удалении от комбината. Распределение устойчивого снежного покрова неравномерно. В 1, 5 и 7 км от комбината наблюдаются резкие колебания глубины – линейные отклонения достигают 50 см. На 29 км снег глубже и вариация глубины меньше.

Варьирование глубины снега зависит от многих факторов, и в первую очередь, от характера рельефа – чем ближе к комбинату, тем сложнее. Разрежённость древесного яруса оказывает влияние на плотность и распределение снега, особенно, в период снеготаяния. На открытых участках снег уплотняется непосредственно в нижних слоях, образуя фирн и слёживается, в основном в понижениях микрорельефа, задерживаясь до начала – середины лета, отодвигая на несколько недель развитие растительности, и её вегетативное возобновление.

Глубина и плотность снежного покрова тесно связаны с рельефом и характером древостоя. При уплотнении структуры древесного яруса глубина снежного покрова возрастает и становится более равномерной, при уменьшении плотности.

ГАЛОФИТНАЯ РАСТИТЕЛЬНОСТЬ. ОХРАНА РЕДКИХ ГАЛОФИТНЫХ СООБЩЕСТВ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Карпов Д.Н., Карпов С.Д., Загидуллина Л.Ф.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет,
Стерлитамак, Россия

LiliyaZag70@yandex.ru

Южный Урал наиболее типичный физико-географический и экономический регион, где серьезное ухудшение экологической обстановки создает угрозу для сохранения видового разнообразия растительного мира. Антропогенное влияние на природную среду приводит к уменьшению численности и исчезновению многих узкоареальных видов растений и видов с узкой экологической амплитудой.

Д.Н. Карповым и Н.А. Юрицыной описано 11 галофитных сообществ, содержащих в своем составе исчезающие и редкие виды сосудистых растений и нуждающиеся в охране.

Для их охраны мы рекомендуем организовать в Республике Башкортостан 8 ботанических заказников:

В пойме р. Юшатырь в 2 км южнее пос. Ново-Мурапталово Куюргазинского района (асс. *Cirsio esculenti-Hordeum brevisubulati*).

В районе д. Кызыл-Маяк Куюргазинского района (асс. *Limonio gmelinii-Puccinellietum tenuissimae*).

На участке поймы р. Ашкадар между деревнями Нордовка Мелеузовского района и Златоустовка Федоровского района (ассоциации *Cirsio esculenti-Festucetum valesiacaе*, *Hordeo brevisubulati-Agrophyretum desertori*, *Hordeo brevisubulati-Festucetum pseudovinae*).

В урочище «Солонцы» (3 км восточнее д. Саитово Федоровского района) (асс. *Calamagrostio epigeii-Saussuretum amarae*).

В урочище «Берказан» Давлекановского района (асс. *Salicornio perennantis-Suaedetum corniculatae*).

В районе пос. Акъяр Хайбуллинского района (ассоциации *Artemisio lerchianaе-Limonietum gmelinii* и *Puccinellio tenuissimae-Limonietum suffruticosi*).

На участке в 2 км восточнее д. Татлыбаево Баймакского района (асс. *Junco gerardii-Agrostidetum stoloniferae*).

На участке между деревнями Карышкино и Апешево Баймакского района (асс. *Puccinellietum tenuissimae*).

На территориях, спроектированных в степной зоне Башкирского Зауралья, у населенных пунктов Ново-Зирган, Мамбетово и Макан Хайбуллинского района памятников природы мы рекомендуем охранять 10 ассоциаций, в том числе у с. Ново-Зирган - 6 (*Hordeo brevisubulati-Festucetum pseudovinae*, *Elytrigio repentis-Alopecuretum arundinacei*, *Festuco pseudovinae-Salicornietum europaeaе*, *Stemmacantho serratuloidis-Puccinellietum dolicholepidis*, *Limonio gmelinii-Puccinellietum tenuissimae*, *Limonio gmelinii-Caraganetum fruticosae*); у поселков Мамбетово и Макан - 4 (*Halimiono verruciferae-Puccinellietum tenuissimae*, *Puccinellio tenuissimae-Limonietum suffruticosi*, *Limonio suffruticosi-Camphorosmetum monspeliacaе*, *Artemisio lerchianaе-Leymetum ramosi*).

Редкие галофитные сообщества были выявлены в ходе маршрутных исследований на территории Республики Башкортостан. Исследованиями охвачены солончаковые луга пойм рек, солонцеватые степи водоразделов. Было выполнено полное геоботаническое описание площадок 10 x 10 метров. Для классификации растительности использовался эколого-флористический подход Браун-Бланке.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СЕДИМЕНТАЦИОННЫХ СВОЙСТВ АКТИВНОГО ИЛА НА ДЕГИДРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ

Козлова А.А., Чухчин Д.Г.

ФГАОУ ВПО Северный (Арктический) федеральный университет им.

М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия

nastenakozlova2014@mail.ru

Современные подходы к защите и сохранению окружающей среды, к комплексному использованию биоресурсов предполагают направленное применение различных живых организмов и их биологических систем при создании новых технологий для улучшения качества очистки сточных вод.

Целью работы является исследование влияния седиментационных свойств активного ила на дегидрогеназную активность.

В исследовании проводили разделение суспензии активного ила на отдельные фракции с использованием делительной воронки (длина воронки составляла 1 м) и методики, разработанной в ходе эксперимента. Пробоподготовка включала лиофильное высушивание образцов с применением устройства для лиофильного высушивания Labconco FreeZone. Следующий этап исследования - определение дегидрогеназной активности отдельных фракций. Методика основана на определении скорости восстановления метиленового голубого при окислительно-восстановительной реакции, катализируемой ферментами дегидрогеназами, в суспензии микроорганизмов. Анализ проводили, используя установку для автоматического определения дегидрогеназной активности, разработанную на кафедре биотехнологии и биотехнических систем САФУ имени М.В. Ломоносова. Масса навески абсолютно сухого ила для анализа находилась в диапазоне от 5 до 30 мг.

В ходе исследования была предложена и апробирована методика для фракционирования суспензии активного ила. С помощью данной методики удалось разделить пробы активного ила на 40 фракций.

Установлено, что наиболее приемлемой фракцией для практического применения на очистных сооружениях являются средние фракции активного ила, так как они обладают необходимой дегидрогеназной активностью в диапазоне 1,0...1,4 мкмоль/(мин·г). В соответствии с установленным фактом относительно седиментационной неоднородности фракций активного ила, а также различной физиологической активности этих фракций, разрабатывается схема повышения эффективности биологической очистки сточных вод.

Фракционирование и отделение низкоэффективной фракции ила позволит повысить общую дегидрогеназную активность возвратного ила, а, следовательно, повысить эффективность биологической очистки сточных вод в несколько раз.

Работа выполнена при финансовой поддержке базовой части государственного задания (проект «Биотехнология возобновляемых ресурсов растительного происхождения», САФУ имени М.В. Ломоносова, 2015 г.) Минобрнауки РФ.

КРИТЕРИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ СИНТЕЗА И ЭКСПЛУАТАЦИИ СЕТЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И КОМПОЗИТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

Косарев А.В., Добролюбова Т.А.

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный технический университет им.

Гагарина Ю.А., Саратов, Россия

aleteia@inbox.ru

Сетчатые полимеры сегодня находят широкое применение во многих отраслях промышленности: медицине и фармакологии, пищевой и химической технологии, строительстве, приборо- и автомобилестроении, в легкой промышленности при изготовлении товаров широкого потребления. Этот факт обуславливает актуальность задачи определения критериев химической безопасности сетчатых полимеров и композитов на их основе в процессе их синтеза и эксплуатации.

Методом молекулярного моделирования нами установлена взаимосвязь структуры полимерной фазы, формирующейся в ходе отверждения олигомерных смол (ЭД-20, СФ-342А, ПН-15), и фактора химической безопасности данного процесса, в качестве которого выбрано отношение концентрации свободного олигомера к его ПДК. Для исследования влияния деформаций на химическую безопасность сетчатого полимера нами получены математические модели в рамках подхода статистической термодинамики.

Показано, что с уменьшением средней молекулярной массы межузловой цепи и межузлового расстояния повышаются предельные упруго-деформационные характеристики при разрыве: напряжение, модуль упругости и снижается величина техногенного риска, связанного с поступлением в окружающую среду свободного олигомера. Также показано, что распределение частиц наполнителя в структуре отверждающейся олигомерной смолы при достижении предельного концентрационного значения приводит к увеличению массовой доли свободного олигомера в системе и, таким образом, повышению его фактора химической опасности.

Таким образом, увеличение густоты шивки, снижение молекулярной массы межузловых цепей сетчатого полимера и контроль концентрации и степени диспергирования наполнителя являются условиями химической безопасности при производстве и эксплуатации сетчатых полимеров и композитов на их основе. Результаты данной работы применимы для оценки эколого-экономического ущерба на производствах химической и перерабатывающей промышленности.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РОСТА КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* (TURP.) BRÉV. И *MONORAPHIDIUM* *ARCUATUM* (KORSCH.) HIND. ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ В РАЗНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА

Кравцова Г.В.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

velliri@yandex.ru

Одним из компонентов загрязнения пресных вод являются тяжелые металлы, в том числе хром и серебро. При оценке качества водной среды в мировой практике широко применяются микроводоросли. Целью работы было сравнение структурно-функциональных характеристик модельных популяций водорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. и *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind при действии $K_2Cr_2O_7$ и коллоидного серебра в разные сезоны года.

S. quadricauda (ценобии) и *M. arcuatum* (одиночные клетки) - пресноводные зеленые хлорококковые микроводоросли. Проведен анализ роста этих культур при действии $K_2Cr_2O_7$ и коллоидного серебра (по данным, любезно предоставленным Ипатовой В.И. и Спиркиной Н.Е.) в том числе с использованием метода расчета повременной суммарной численности клеток в культурах. В опытах использовали культуры плотностью 50-100 тыс. кл/мл. $K_2Cr_2O_7$ оценивали в концентрациях 0,5; 1; 3; 6; 10 мг/л для *S. quadricauda* и 0,1; 1; 10 мг/л для *M. arcuatum*, а коллоидное серебро в концентрациях 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1 мг/л.

Установлено, что рост культур в разные сезоны различается по активности: наиболее активен в конце зимы, а наименее активен – осенью (по результатам роста контрольных культур). Влияние $K_2Cr_2O_7$ на рост численности клеток также было значительнее зимой. Более активный рост культур в зимний период, на первый взгляд, противоречит ожидаемой активности вегетации в летний период года. Однако периоды активного роста культур в зимний период приходятся на время активного увеличения светового дня, в летний период приходился на время уменьшения светового дня. Для сравнения эффектов воздействия $K_2Cr_2O_7$ в разных испытаниях в разные сезоны были рассчитаны ЭК50 за 4 суток, составившие в зимний, летний и осенний периоды 2,44; 4,305 и 5,1 мг/л, соответственно. При сравнении эффектов воздействия $K_2Cr_2O_7$ на тестовые культуры была выявлена более высокая чувствительность *M. arcuatum* по сравнению с *S. quadricauda*. При действии коллоидного серебра на рост *S. quadricauda* отмечена стимуляция при концентрациях до 0,01 мг/л, и угнетение роста *M. arcuatum* при концентрации 0,0001 мг/л. Однако полуэффективные концентрации для обоих видов были близкими (0,04 и 0,05 мг/л, соответственно).

Таким образом, в разные сезоны года в периоды наиболее активного роста культур *S. quadricauda* и *M. arcuatum* токсическое действие токсиканта выражено в большей степени, чем в периоды замедленного роста этих же культур. Коллоидное серебро для обоих видов оказалось более токсичным, чем бихромат калия.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ МАРИЙ ЭЛ В 2013 ГОДУ

Краева Е.М.

ФГБОУ ВПО Поволжский государственный технологический университет,
Йошкар-Ола, Россия

zhenyakraeva@gmail.com

Контроль за качеством воды открытых водоёмов в рамках социально-гигиенического мониторинга в 2013 году осуществлялся Управлением Роспотребнадзора по Республике Марий Эл в 60 точках по 18 санитарно-химическим, микробиологическим и паразитологическим показателям.

По результатам мониторинга состояния загрязнения открытых водоёмов (II категория), проводимого в местах рекреационного водопользования населения, установлено, что в 2013 году удельный вес нестандартных проб воды поверхностных водоёмов, не отвечающих санитарным нормам, остался на уровне прошлого года и составил по химическим показателям 1,3% (в 2012 г. – 1,3%, в 2011 г. – 1,5%), по микробиологическим показателям 0,6% (в 2012 г. –

0,7%, в 2011 г. – 1,8%). Доля проб, не соответствующих санитарным требованиям по паразитологическим показателям, составила 0,3% (в 2012 г. – 0%, в 2011 г. – 0,6%). Доля проб из водоемов I категории (р. М. Кокшага), не соответствующих санитарным требованиям по санитарно-химическим показателям, составила в 2013 г. – 0% (в 2012 г. – 0%, в 2011 г. – 4,1%, в 2010 г. – 7,4%), по микробиологическим показателям 0%, (в 2012 г. – 0%, в 2011 г. – 3,9%, в 2010 г. – 3,9%), по паразитологическим показателям – 0% (в 2012 г. – 0%, в 2011 г. – 5%, в 2010 г. – 0%).

При расчете суммарного показателя загрязнений донных отложений были выбраны металлы, имеющие наиболее высокие классы опасности: медь, цинк, свинец, кадмий (для р. М. Кокшаги в г. Йошкар-Оле – дополнительно никель).

Результаты государственного мониторинга водных объектов локального мониторинга, проводимого предприятиями – водопользователями, подтверждают, что поверхностные воды испытывают значительное антропогенное воздействие. Основная масса загрязняющих веществ поступает в бассейны рек в районах, где сконцентрировано большинство промышленных предприятий и предприятий жилищно-коммунального хозяйства, очистные сооружения которых являются основными загрязнителями водных объектов. Основными загрязняющими веществами водных объектов республики являются азот аммонийный, легкоокисляемые органические вещества по БПК₅, нитриты, фосфаты (по фосфору), нефтепродукты, взвешенные вещества, цинк.

Результаты лабораторных анализов проба воды в рамках социально-гигиенического мониторинга в 2013 году по Республике Марий Эл свидетельствуют об улучшении качества воды открытых водоемов по санитарно-химическим, микробиологическим и паразитологическим показателям.

ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И СРЕДОВАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

Кучеров Д.А.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

cyathus@yandex.ru

Фенологические модели, предсказывающие распространение насекомых-вредителей, часто основаны на константных видоспецифичных параметрах жизненного цикла. Между тем, экофизиология вида может меняться во времени и пространстве, отражая адаптацию к действию климатических факторов. Мы изучили одновременное влияние температуры и длины дня на развитие и массу тела колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera, Chrysomelidae) из двух популяций: брянской и петербургской. В окрестностях Брянска в тёплые годы жук успешно развивается в двух поколениях за сезон. Для Ленинградской области 30 лет назад указывалось, что жук едва успевает завершить развитие даже одного поколения, однако сейчас под Петербургом существуют устойчивые очаги вредителя. Следовательно, на севере должен был идти интенсивный отбор на ускорение развития. Это мы и наблюдали при сравнении яиц, личинок и куколок разного географического происхождения: петербургские жуки на всех стадиях развивались быстрее брянских, особенно при высоких температурах. В природе это сокращает сроки завершения метаморфоза и позволяет лучше использовать повышенные температуры, нечастые в высоких широтах, что особенно актуально для насекомых с поведением обогрева, таких как колорадский жук. Факт наличия у *L. decemlineata* широтной изменчивости по термолабильности развития во вторичном ареале показан впервые. Географическая изменчивость массы тела оказалась значительно перекрыта влиянием температуры и фотопериода, поэтому здесь никаких явных межпопуляционных различий выявить не удалось. Более отчётливым было влияние длины дня на сроки преимагинального развития и массу тела имаго. В обеих популяциях, независимо от температуры, развитие протекало быстрее в короткодневных условиях (12 ч света в сутки) и не было скомпенсировано быстрым ростом, т.е. взрослые жуки в итоге оказались легче. У петербургской популяции, установившейся лишь в последние годы, такая реакция на фотопериод унаследована от южных предков и является «экологическим рудиментом»,

поскольку в условиях Ленинградской области колорадский жук никогда не развивается при 12-часовом фотопериоде. Однако в Брянске ускорение развития личинок в конце августа–начале сентября должно способствовать своевременному окукливанию, так как зимовать может лишь имаго. Следовательно, для прогнозирования сроков развития жука в природе и его дальнейшего распространения важно иметь в виду как адаптивную географическую изменчивость сроков развития, так и их пластичность в течение сезона. Работа поддержана РФФИ (грант 14-04-01156-а).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА ПЕРЕХОДА ^{90}Sr В КОРНИ И ПРОРОСТКИ КРЕСС-САЛАТА ПРИ ЕГО ПРОРАЩИВАНИИ В ЗАГРЯЗНЕННОЙ ВОДЕ

Кылина Н.С., Павлова Н.Н.

Обнинский институт атомной энергетики – филиал ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия

nadpavl@yandex.ru

В связи с интенсивным развитием атомной энергетики большую актуальность приобретают исследования, связанные с оценкой влияния предприятий ядерно-топливного цикла и хранилищ радиоактивных отходов (РАО) на объекты окружающей среды. В представленной работе проводилась оценка влияния ^{90}Sr , содержащегося в воде одной из контрольных скважин хранилища радиоактивных отходов г. Обнинска, на овощное однолетнее растение кресс-салат. Многими исследователями показано, что кресс-салат обладает повышенной чувствительностью к загрязнению среды поллютантами. Этот биоиндикатор отличается быстрым прорастанием семян и почти стопроцентной всхожестью, которая заметно уменьшается в присутствии загрязнителей. Кроме того, побеги и корни этого растения под действием загрязняющих веществ подвергаются заметным морфологическим изменениям (задержка роста и искривление побегов, уменьшение длины и массы корней и др.).

Целью данной работы является определение коэффициента перехода ^{90}Sr в корни и проростки кресс-салата при его проращивании в загрязненной данным радионуклидом воде.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

определить всхожесть семян кресс-салата в воде, отобранной из контрольной скважины хранилища радиоактивных отходов г. Обнинска;

оценить активность ^{90}Sr в тестируемой воде;

определить активность ^{90}Sr в биомассе кресс-салата;

оценить кислотность воды из контрольной скважины хранилища РАО;

определить ферментативную активность в проростках и корнях кресс-салата.

Содержание ^{90}Sr в исследуемой воде из скважины и в корнях и проростках кресс-салата определяли радиохимическим методом. Полученные результаты обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 7.0.

Результаты исследования показали, что всхожесть семян кресс-салата в контроле $98,00 \pm 7,12$ %, в исследуемой воде - $84,00 \pm 6,56$ %. Проростки имели морфологические изменения. Активность ^{90}Sr в воде из контрольной скважины хранилища РАО: $23,4 \pm 1,8$ Бк/л, активность радионуклида в проростках и корнях кресс-салата - $18,58 \pm 1,3$ Бк/кг. Значение рН в исследуемой воде из скважины: $6,8 \pm 0,2$, в контроле - $7,2 \pm 0,3$. Коэффициент перехода стронция из исследуемой воды в проращиваемое растение равен 0,8. Коэффициент корреляции при оценке зависимости всхожести семян кресс-салата от активности ^{90}Sr равен $r = -0,961$. При статистической обработке полученных результатов с помощью корреляционного анализа было выявлено достоверное снижение всхожести семян кресс-салат под действием ^{90}Sr . Обращает на себя внимание также высокий коэффициент перехода данного радионуклида из водного раствора в проращиваемое растение. В работе также исследовали изменение активности ферментов каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы и шикиматдегидрогеназы в биомассе кресс-салата под действием ^{90}Sr . Содержание ^{90}Sr в воде достоверно снижает активность супероксиддисмутазы, пероксидазы, шикиматдегидрогеназы в корнях и проростках кресс-салата, но повышает активность каталазы. Полученные результаты показывают, что кресс-салат

можно использовать как чувствительный биоиндикатор к действию ^{90}Sr при оценке радиоактивного загрязнения объектов окружающей среды.

ЗООГИДРОБИОНТЫ В МОНИТОРИНГЕ ОЗЕР ИЛЬМЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАПОВЕДНИКА

Литус К.Е., Артюков Е.В., Машкова И.В.

ФГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный университет (национальный
исследовательский университет), Челябинск, Россия

lituskristina@yandex.ru

Современный мониторинг водоемов ограничивается проведением анализов физико-химических свойств воды, что не дает полной картины экологического состояния водных объектов. Проведение гидробиологических исследований позволяет не только расширить зону мониторинга, но и определить степень влияния загрязнения на биоту водоемов.

Целью нашей исследовательской работы было определение загрязненности водоемов методами биоиндикации. Для исследований нами выбраны два водоема: озера Аргаяш и Ильменское. В летний период 2013 - 2014 годов проводились отборы проб зоопланктона. Выбор точек отбора проб обосновывался степенью антропогенной нагрузки. Сбор и обработку материала проводили по общепринятым методикам.

Проведенные исследования показывают, что изменение класса качества воды может быть и не связано с антропогенным воздействием, и происходит это изменение в результате естественного старения водоема. Именно этот процесс и протекает в озере Аргаяш, на которое не оказывается антропогенное воздействие, так как оно расположено на территории Ильменского заповедника. В свою очередь класс качества воды озера Ильменское на прямую, зависит от антропогенного воздействия. Антропогенную нагрузку на озеро Ильменское оказывают: на западном берегу озера – две базы отдыха, на северном – жилой поселок и нефтебаза, недалеко от восточного побережья – тальковский комбинат, а также железная и автомобильная дороги. Зоопланктон, с его индикаторными свойствами, может использоваться в качестве объекта мониторинга водных экосистем, а также этот метод оценки качества воды считается по сравнению с химическим методом довольно дешевым.

В результате исследований было зарегистрировано 23 вида зоопланктона, относящихся к различным жизненным формам, 7 из них являются показателями загрязненности воды. Наиболее часто встречающиеся виды: *Elosa woralli*, *Encentrum lutra*, *Rotaria citrina*, к редко встречающимся относятся: *Eucyclops* sp., *Daphnia longispina*.

Исследование степени загрязнения водоема по биоразнообразию зоопланктона показывает, что озеро Ильменское в настоящее время следует оценивать как водоем слабого загрязнения, относящегося к β -мезосапробной зоне с 3 классом качества воды.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ РЕК ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

Домовский А.И.¹, Фунтикова Т.В.², Береза С.А.¹

¹ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет, Тула; ²ФГБОУ ВПО
Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия

gresfers@yandex.ru

В работах, посвященных проблемам загрязнения окружающей природной среды и экологического мониторинга, на сегодняшний день к тяжелым металлам относят более 40 металлов периодической системы Д.И. Менделеева с атомной массой свыше 50 атомных единиц: V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Sn, Hg, Pb, Bi и др. При этом немаловажную роль в категорировании тяжелых металлов играют следующие условия: их высокая токсичность для живых организмов в относительно низких концентрациях, а также способность к биоаккумуляции и биомagniфикации. Тяжелые металлы, попадая в организм, остаются там

навсегда, т.к. вывести их очень трудно. Достигая определенной концентрации в организме, они начинают свое губительное воздействие - вызывают отравления, мутации. Концентрированные растворы их солей, обладая вяжуще-прижигающим действием, нарушают функции органов дыхания. Гидроокиси железа и марганца, осаждаясь на жабрах, нарушают газообмен, что приводит к асфиксии.

Метод атомно-абсорбционной спектрометрии – один из наиболее чувствительных и удобных методов массовых одноэлементных определений большинства металлов.

В работе использовали образцы донных отложений, отобранных в реках Тульской области: Дон, Ока, Непрядва и Воронка (приток Упы). Методом атомно-абсорбционной спектрометрии определяли содержание металлов Ni, Cu, Zn, Pb. Полученные результаты сопоставляли с ориентировочно допустимыми концентрациями (ОДК) химических веществ в почве согласно Гигиеническим нормативам 2.1.7.2511-09. Анализ выявил превышение ОДК свинца в донных отложениях реки Воронка в районе Ясной Поляны в 3 раза (300 ± 60 мг/кг), а в донных отложениях реки Дон в районе поселка Епифань - в 10 раз (1600 ± 300 мг/кг). Концентрации остальных металлов донных отложений не превышали ОДК. Известно, что реки и озера могут загрязняться свинцом как при смывании минералов свинца (галенит, англезит, церуссит), так и антропогенным путём (сжигание угля, применение тетраэтилсвинца в топливе, сбросы фабрик по рудообогащению, сточные воды с шахт и металлургических заводов). По-видимому, повышенное содержание свинца в донных отложениях реки Воронки обусловлено загрязнением стоками Косогорского металлургического завода, а в случае реки Дон в районе поселка Епифань – сточными водами с угольного разреза Кимовского района.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ БЕЛОГО ФОСФОРА ПРИ ПОМОЩИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ

**Миндубаев А.З.¹, Алимова Ф.К.², Сапармырадов К.А.², Волошина А.Д.¹,
Горбачук Е.В.¹, Минзанова С.Т.¹, Яхваров Д.Г.¹**

¹ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН;

²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

mindubaev@iopc.ru

Белый фосфор P4 является одним из самых опасных загрязнителей окружающей среды. Но продукт его окисления фосфат необходим всем живым организмам. Целью настоящего исследования являлась переработка белого фосфора при помощи микроорганизмов. Использовали смесь уплотненного и обезвоженного осадка сточных вод (ОСВ) МУП Водоканал г. Казани. Белый фосфор вносился в ОСВ нами в виде водной эмульсии. При содержании P4 в субстрате 0.1% по массе, наблюдалось значительное угнетение жизнедеятельности микрофлоры. Тем не менее, даже при такой концентрации токсичного вещества не наблюдалась полная гибель микроорганизмов. При содержании P4 в иле 0.01% по массе, наблюдалось значительное угнетение в течение приблизительно 2–3 недель, затем жизнедеятельность вновь восстанавливалась. Из ОСВ с концентрацией P4 0.01% (масс) первая проба для 31P ЯМР анализа была взята на 35 день. Спектры продемонстрировали наличие белого фосфора. Вторая проба была отобрана на 63 день. Спектр показал отсутствие сигнала. Таким образом, срок продолжительностью 63 суток оказался достаточным для переработки белого фосфора в концентрации 0.01%. На поверхности осадков с добавлением P4 наблюдался рост колоний микроорганизмов. Выделенные микроорганизмы идентифицировали как представителей рода *Streptomyces* и *Bacillus*. Анализ показал, что концентрация белого фосфора в субстратах обратно пропорциональна активности микробного метаболизма в них. В опытном спектре 31P ЯМР, снятом с водной фазы, проявились сигналы, соответствующие фосфиту и гипофосфиту. Таким образом, он соответствует соединениям, которые, предположительно, являются метаболитами белого фосфора, т.е., является подтверждением предполагаемого нами метаболического пути. Спектр, снятый с контрольного образца одновременно с опытным, на том же приборе и в тех же условиях, не содержит аналогичные сигналы. Это служит доказательством того, что обнаруженные соединения действительно являются метаболитами белого фосфора. Впервые произведены посевы микроорганизмов различных таксономических групп (грибов, стрептомицетов и бактерий) на культуральные

среды, содержащие белый фосфор в качестве единственного источника фосфора, в концентрации до 0.5%. На данных средах микроорганизмы росли и не испытывали фосфорное голодание. Это первый в мире пример включения белого фосфора в биосферный круговорот элемента фосфора. Самая высокая концентрация соответствует превышению ПДК белого фосфора в сточных водах в 5000 раз!

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-08-31091 мол_а).

АЛЬГОЛОГИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ РОССИИ: СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ

Москаленко С.В.¹, Темралева А.Д.^{1,2}

¹ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН;

²ФГБОУ ВПО Пушинский государственный естественно-научный институт,
Пушино, Россия

moskalenkosvetlana@yandex.ru

Создание, поддержание и развитие биологических коллекций являются приоритетами комплексной программы развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года (утв. Правительством РФ от 24 апреля 2012 г.). Биологические коллекции являются не только банками хранения генофонда живых организмов, но и ведущими научно-исследовательскими центрами. По данным Всемирной федерации коллекций культур (World Federation for Culture Collection – WFCC) в России зарегистрировано всего 22 биокolleкции, из которых только 7 содержат в фонде штаммы водорослей. В то время как водоросли являются не только популярным объектом фундаментальной науки, но имеют широкое прикладное значение в решении ряда биотехнологических задач (биотопливо, биоремедиация, производство биологически активных добавок и удобрений). Следовательно, необходимость и важность альгологических коллекций не вызывает сомнения.

В 2010 году в Институте физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН была создана Альгологическая коллекция – Algal Collection of Soil Science Institute (ACSSI). В настоящее время фонд коллекции составляет 294 штамма цианобактерий и зеленых, харофитовых и охрофитовых водорослей, преимущественно выделенных из наземных экосистем. Помимо собственных штаммов в ACSSI депонированы штаммы из других коллекций: SAG, ACKU и BCAC, в том числе и аутентичные. Особую ценность в коллекции играют штаммы новых для науки таксонов и впервые обнаруженные на территории России. Тем не менее, поддержание и развитие альгологических коллекций в целом, и ACSSI в частности, сталкивается с рядом финансовых, правовых, кадровых и других проблем. Так, отсутствие целевого финансирования на постоянной основе и правового регулирования целого ряда аспектов работы с коллекциями, отсутствие или недоступность каталогов штаммов или коллекционных образцов, слабая координация и стратегическое планирование деятельности биологических коллекций, устаревшая приборная база, дефицит квалифицированного научного и вспомогательного персонала ставят под угрозу существование не только ценных биообразцов, но и самих коллекций.

Остается надеяться, что переломить данную ситуацию сможет комплекс мер по системной поддержке коллекций растений и животных, который должен быть реализован по программе «Развитие биотехнологии и геной инженерии» (Распоряжение Правительства РФ от 18 июля 2013 г.).

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 14-04-31016 мол_а и 12-04-00385 и.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ В БИОМОНИТОРИНГЕ

Мякишков К.А., Пашина Е.А.

ФГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный университет (национальный
исследовательский университет), Челябинск, Россия

kit-174@mail.ru; elenap333@mail.ru

Брюхоногие моллюски имеют важное значение для биомониторинга пресных поверхностных вод, в частности для выявления долговременных антропогенных воздействий. Они широко используются для биоиндикации водной среды, а также в классической экотоксикологии, в частности для индикации загрязнений природных вод тяжелыми металлами. Лужанка обыкновенная (*Viviparus Viviparus*) – наиболее распространенный в пресных водоемах Южного Урала брюхоногий моллюск, который после проведения соответствующих исследований может быть с успехом использован в качестве индикаторного вида.

Наши исследования проводились в июне – июле 2014 года на территории научной базы Ильменского государственного заповедника УрО РАН. Для проведения исследований были выбраны семь станций в прибрежной зоне озера Ильменское и две станции в прибрежной зоне озера Аргаяш. Моллюски собирались вручную с грунта (на мелководье), с поверхности водных растений и камней, а также с применением специализированных орудий сбора: скребка, драги, сита. Раковины моллюсков измерялись с помощью штангенциркуля с точностью до 0,1 мм по шести стандартным промерам: высота раковины, ширина раковины, высота завитка, высота последнего оборота высота и ширина устья с колумеллярным отверстием. Всего было промерено 397 раковин.

В исследованных точках было обнаружено 11 видов брюхоногих моллюсков. Наибольшим количеством видов характеризуется точка 9 (озеро Аргаяш), наименьшее количество видов обнаружено в точке 6 (озеро Ильменское).

В результате произведенных замеров и расчетов обнаружено, что количественные морфологические признаки высоты раковины характеризуются большой, часто непрерывной изменчивостью, на которую существенно влияют экологические факторы. Сравнивая коэффициент изменчивости признаков, отметили, что вариабельность высоты раковины составляет 27,7%, тогда как вариабельность количества завитков – 12,8%. Следовательно, исследование изменчивости признака высоты раковины позволит оценить роль генотипа и среды в формировании изменчивости особей в естественных популяциях, а также критерии классификации различных форм изменчивости. Поэтому, на наш взгляд, можно ориентироваться на степень равномерного распределения признака при оценке качества воды озер.

ОСОБЕННОСТИ ФЛОРИСТИЧЕСКОГО СОСТАВА НОВОГО ИНВАЗИВНОГО ВИДА ЧЕРЕДЫ ОЛИСТВЕННОЙ (*BIDENS FRONDOSA*) В ЭКОСИСТЕМАХ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАКА

Низамова Д.Р., Петров С.С.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет,
Стерлитамак, Россия

di.nizamova2015@yandex.ru

Урбанизация, являясь неотъемлемой чертой современности, оказывает все возрастающее влияние на формирование растительного покрова. На фоне глобальной тенденции снижения биологического разнообразия изучение флор городов заслуживает особого внимания. В данной работе приводятся результаты изучения флористического состава сообществ *Bidens frondosa* в экосистемах г. Стерлитамака, который является крупным центром химической промышленности и машиностроения. Сбор материала проводился в августе 2014 года.

По результатам исследования в составе флоры с доминированием *Bidens frondosa* выявлено 44 вида рудеральных растений, относящихся к 17 семействам. Наиболее крупными по числу видов семействами на изучаемой территории являются: Asteraceae (34,0%), Poaceae (13,6%), Polygonaceae (9,1%), Chenopodiaceae (6,8%), Fabaceae (4,5%), Scrophulariaceae (4,5%), Lythraceae

(4,5%), причем пять первых семейств составляют чуть более половины видов флоры - 68%. Степень их участия во флоре отражает и комплекс почвенно-климатических факторов, и историю, и современное состояние флоры, испытывающей влияние человека.

Согласно анализу жизненных форм изучаемой флоры по К. Раункиеру характерно преобладание гемикриптофитов (45,5%), многолетних травянистых растений с отмирающими к зиме надземными побегами, почки возобновления которых находятся на поверхности почвы под защитой отмерших или оставшихся живыми листьев. Это свидетельствует о существенном вкладе во флору города и в частности в ценофлору сообществ *Bidens frondosa* видов естественных растительных сообществ. Доля терифитов составляет 36,4%, однолетние растения, отмирающие к зиме с сохранением жизнеспособных семян.

Лидирующее положение в фитосоциологическом спектре флоры принадлежат преобладающим классам *Stellarietea mediae* - 20,4% (однолетняя сорная растительность пропашных культур, садов и сообщества представляющие начальные стадии восстановительных сукцессий после нарушения), *Bidentetea tripartite* - 18,1% (это синантропные сообщества переувлажненных мест) и *Plantaginetea majoris* - 16% (сообщества низкорослых, устойчивых к вытаптыванию и выпасу мезофитов и гигрофитов на пастбищах, спортивных площадках, во дворах).

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ФИТОПЛАНКТОНА ОЗЕР ИЛЬМЕНСКОЕ И АРГАЯШ (ИЛЬМЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЗАПОВЕДНИК)

Нутфуллина В.Х., Кострюкова А.М.

ФГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный университет (национальный
исследовательский университет), Челябинск, Россия

venera_yrg@mail.ru, anmikost@mail.ru

В данной работе представлены результаты исследования видового разнообразия фитопланктона озер Ильменское и Аргаяш, расположенных на территории Ильменского государственного заповедника. Рассчитаны индексы биологического разнообразия с использованием статистического модуля «GRAPHS», а также индексы сапробности.

Озеро Ильменское расположено на южной границе Ильменского заповедника. К заповеднику относится небольшая часть юго-восточного побережья. На северном берегу находятся жилой поселок и нефтебаза, на западном – две базы отдыха, вблизи восточного – проходят железная и автомобильная дороги. Экосистема данного водоёма подвергается антропогенной нагрузке [1]. Озеро Аргаяш расположено восточнее Ильменского озера, к юго-востоку от Миасса, целиком располагается в пределах Ильменского заповедника.

Исследования проводили в июне-июле 2014 г. на территории научно-производственной базы Ильменского государственного заповедника УрО РАН. Для исследований на озере Ильменское было выбрано 7 точек отбора проб, а на озере Аргаяш – 3 точки. Для анализа биологического разнообразия фитопланктона были рассчитаны индексы Маргалёфа, Симпсона и Шеннона с использованием статистического модуля «GRAPHS». Оценка качества воды проводилась по методу Пантле-Букка в модификации Сладечека.

Индекс Маргалёфа отражает плотность видов на определенной территории, т. е. чем выше индекс, тем большим видовым богатством характеризуется данная территория. Для озера Ильменское наименьшие значения наблюдаются в точках 2 и 3, наибольшее – в точке 7. Озеро Аргаяш характеризуется низким индексом (1,84) в точке 2. Индекс Симпсона отражает доминирование отдельных видов сообщества. Полученные значения для обоих озер свидетельствуют о равномерном распределении видов без преобладания какого-либо из них. Индекс биоразнообразия Шеннона отражает сложность структуры фитопланктонного сообщества. Полученные результаты указывают на среднюю сложность структуры. Значения показателя сапробности характеризуют качество воды. Большинство точек озера Ильменское относится к β -мезосапробной зоне (чистая вода), за исключением точки 3 (α -мезосапробная зона, умеренно загрязненная). Озеро Аргаяш характеризуется чистой водой (олигосапробная зона).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, не смотря на действующую антропогенную нагрузку на озеро Ильменское, о достаточно богатом видовом разнообразии, равномерном распределении и средней сложности структуры фитопланктонного сообщества озер. Результаты сапробиологического анализа позволяют отнести класс качества воды данных водоемов к чистой.

МАКРОМИЦЕТЫ БОЛОТА «ФАБРИЧНОЕ» (Г.БОРОВСК, КАЛУЖСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Орехова В.А.¹, Богомолова А.А.^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского;

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Калуга, Россия

orangefox1996@mail.ru

Болото представляет собой особую экосистему со своеобразными гидротермическими условиями и характером минерального питания, специфичность которых определяет видовой состав не только растений, но и грибов-макромицетов, входящих в состав болотного биоценоза. Болото «Фабричное» расположено на юго-восточной окраине г. Боровска Калужской области и занимает площадь более 20 га. Оно является частью гидрологической системы бассейна реки Протвы. Участок верхового болота шириной около 50 м и длиной 700 м окружен участками переходного болота с типичной растительностью.

Изучение видового состава макромицетов проводилось весной-осенью 2011 и 2013 г. на учетных маршрутах (длина учетной полосы 3км, ширина - 5м), которые обследовались каждые 10 дней. Всего в 2011 году отмечены 32 вида макромицетов, в 2013 году - 9 видов. Среди отмеченных видов преобладают базидиальные макромицеты. Достоверно определены 25 видов: *Leccinum holopus*, *Pseudohygrocyde marchii*, *P.miniata*, *Laccaria proxima*, *Lyophyllum palustre*, *Mycena megaspore*, *Omphalina oniscus*, *O.sphagnicola*, *Collybia aquosa*, *C.dryophila*, *Amanita fulva*, *Hypholoma elongatum*, *Entoloma sphagnorum*, *Cortinarius croceus*, *C. semisanguineus*, *Inocybe lacera*, *Galerina cerina*, *G.paludosa*, *G.tibiicystis*, *G.stylifera*, *Psathyrella sphagnicola*, *Russula betulorum*, *R. paludosa*, *Lactarius helvus*, *Geoglossum glabrum*. В 2011 году по числу видов доминировали семейства рядовковых (*Tricholomataceae*) и паутинниковых (*Cortinariaceae*), а в 2013 году - паутинниковых (*Cortinariaceae*) и строфариевых (*Strophariaceae*). Сумчатые грибы в сборах 2011 и 2013 гг. представлены одним видом - геоглоссум гладкий (*Geoglossum glabrum*).

На изучаемом болоте выделено два типа местообитаний: гряды и мочажины. В 2011 г. на грядах отмечено 53,1% всех видов макромицетов, 34,4% встречены как на грядах, так и в мочажине, и лишь 12,5% приурочены только к мочажине. В 2013 году 50% макромицетов отмечены только на грядах, 25,2% предпочитают мочажины и 24,8% отмечены и на грядах, и на мочажинах. По характеру питающего субстрата выделены четыре экологические группы макромицетов: микоризообразователи (34% в 2011г. и 29% в 2013г.), сапротрофы на сфагновых мхах (37% и 43%), сапротрофы на опаде (13% и 14%) и гумусовые сапротрофы (16% и 14%).

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ОРГАНИЗМАХ ДАФНИЙ И ПЛАНАРИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ 90Sr

Павлова Н.Н.

Обнинский институт атомной энергетики – филиал ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия

nadpavl77@gmail.com

В последнее время возросло количество источников ионизирующих излучений, воздействующих на объекты биосферы. При облучении природных экосистем последствия радиационного воздействия проявляются одновременно на различных уровнях биологических процессов - от молекулярного и клеточного до популяционного и экосистемного. В связи с этим, целью работы была оценка активности ферментов каталазы, супероксиддисмутазы, пероксидазы и шикиматдегидрогеназы в организмах *Daphnia magna* и *Dugesia tigrina* под

действием ^{90}Sr . Метод биотестирования с использованием дафний широко применяется у нас в стране и за рубежом. Дафнии как обязательный тест-объект включены в схему установления ПДК веществ-загрязнителей и сточных вод в России. Удобным объектом для биотестирования являются регенерирующие плоские черви планарии *Dugesia tigrina*. Этот биологический объект отличается доступностью, экономичностью, хорошей воспроизводимостью результатов и, кроме того, отвечает современным этическим требованиям, согласно которым следует ограничить использование млекопитающих в эксперименте. Благодаря этим достоинствам, планарии успешно используются для изучения свойств воды, тестирования фармакологических веществ, а также исследования биологического действия электромагнитных и ионизирующих излучений. Многими исследователями показана чувствительность планарий к радиоактивному загрязнению.

Объектом исследования являлась вода одной из контрольных скважин хранилища радиоактивных отходов (РАО) г. Обнинска с активностью ^{90}Sr $23,4 \pm 1,8$ Бк/л. Анализ ферментативной активности проводили спектрофотометрическим методом с помощью бескуветного спектрофотометра NanoDrop-2000. Полученные результаты обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 7.0. Результаты эксперимента и обработка данных с помощью корреляционного анализа показали, что ^{90}Sr стимулирует выработку ферментов антиоксидантной системы супероксиддисмутазы ($r=0,303$), каталазы ($r=0,702$), пероксидазы ($r=0,787$), шикиматдегидрогеназы ($r=0,449$) у дафний. У планарий под действием ^{90}Sr происходит повышение активности супероксиддисмутазы ($r=0,528$), каталазы ($r=0,437$), пероксидазы ($r=0,853$), но снижается активность шикиматдегидрогеназы ($r= - 0,694$). Из двух используемых в работе тест-организмов наиболее чувствительным к загрязнению стронция является планария.

ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ВАЛУЕВСКОГО ЛЕСОПАРКА

Пастух А.В., Мануков Ю.И.

ФГБОУ ВПО Московский государственный областной университет, Москва, Россия

pastuhanna@mail.ru

Целью работы было изучение видового разнообразия мышевидных грызунов западной части Валуевского лесопарка Большой Москвы в условиях увеличения степени антропогенной нагрузки и трансформации местообитаний.

Исследования проводились в трех различных биотопах западной части Валуевского лесопарка в окрестностях Акатовской биостанции МГОУ, расположенной в р-не 27 км Киевского шоссе на территории Большой Москвы.

В районе исследований нами были обнаружены мелкие мышевидные млекопитающие, относящиеся к шести видам: рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus*), обыкновенная полевка (*Microtus arvalis*), малая лесная мышь (*Apodemus uralensis*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*), домовая мышь (*Mus Musculus*), мышь-малютка (*Micromys minutus*).

Для достоверной оценки видового разнообразия и выравненности сообщества применены индексы разнообразия Шеннона и Симпсона. Индекс Шеннона наиболее информативен, он не меняется, если число видов и их относительные доли постоянны, поэтому изменения индекса, особенно в сторону уменьшения, указывают на нарушение структуры сообщества, выпадение из него отдельных видов, свидетельствует об утрате его устойчивости. Индекс Симпсона более чувствителен к изменению структуры доминирования в сообществах, особенно связанных с влиянием антропогенных факторов. Используется обратная форма индекса Симпсона, чтобы его величина увеличивалась при возрастании разнообразия.

Колебания видового разнообразия в ольшанике оказались наиболее значительными, чем на других биотопах, что может свидетельствовать о нарушениях структуры доминирования данного сообщества и об утрате его устойчивости.

Таким образом, первоначальные значения индексов видового разнообразия показывают, что до антропогенных преобразований в 2005 году (1997 год) суходольный луг был наиболее разнообразным по видовому составу биотопом, а ольшаник - наименее разнообразным. Это иллюстрирует индекс Симпсона: 3,003 - на лугу, 2,268 - в лесу, 1,695 - в ольшанике. Однако, с

2011 года ситуация изменилась, и ольшаник стал наиболее разнообразным, а лес - наименее разнообразным (3,205 - в ольшанике, 2,915 - на лугу, 2,165 - в лесу), при этом сообщество ольшаника продолжает оставаться наименее устойчивым из трех исследуемых сообществ.

МОНИТОРИНГ ВИДОВОГО СОСТАВА МАКРОМИЦЕТОВ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК

Петров А.Е., Михайлова В.А., Петрова М.В.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет,
Стерлитамак, Россия

ape25@yandex.ru

Стерлитамак второй по величине город в Республике Башкортостан является центром химической и нефтехимической промышленности. В настоящее время степень изученности микобиоты города Стерлитамак сравнительно невелика, поэтому сведения, полученные нами в результате повторного исследования, могут представлять интерес, как и для последующего изучения грибов макромицетов, так и для выявления разнообразия ареалов грибов других городов Республики Башкортостан.

Нами проводится исследование микобиоты города Стерлитамак с 2006 года. В настоящий момент таксономический состав включает 2 отдела, 3 класса, 17 порядков, 30 семейств, 71 род и 149 видов. При определении и систематизации таксонов за основу была взята система высших грибов, опубликованная Хенингом Кнудсеном в книгах «Nordic Macromycetes». Частота встречаемости видов в данном районе исследования различна. Мы провели мониторинг видового разнообразия макромицетов, выявленных в 2008 и 2014 годах исследования, для выявления изменения качественного и количественного состава грибов.

Нами было обнаружено, что видовой состав изменился, и многие виды временно выпали из систематического списка (61, 57%). Но в то же время появились виды, впервые отмеченные для города Стерлитамак (40, 46%). В 2008г. было собрано и определено 107 видов грибов, относящихся к 30 семействам. Наиболее многочисленно представлено семейство Tricholomataceae (24 вида), на втором месте находится семейство Russulaceae (16 видов), на третьем месте – Cortinariaceae (8 видов). Расположение данного семейства на третьем месте свидетельствует о незасоренности микофлоры рудеральными видами. Почти половина семейств представлена 1-2 видами, причем число одновидовых семейств (14) почти в три раза больше двувидовых (5).

Аналогичная картина складывается и для систематического списка 2014 года. На первом месте находится семейство Tricholomataceae (19 видов), на втором – Russulaceae (7 видов), на третьем – Cortinariaceae (7 видов). Только в 2008 году нами был собран 61 вид (40,9% от общего числа видов за оба года исследования). Для 2014 года эти значения составили – 41 вид (27,5%). Коэффициент Сьеренса-Чекановского для 2008 и 2014 гг. составил 30,9%. Незначительное сходство видов может быть связано с тем, что грибницы разных видов, образуют плодовые тела не ежегодно и в разных количествах.

РЕДКИЕ И ИСЧЕЗАЮЩИЕ ВИДЫ В СОСТАВЕ ФЛОРЫ ГОРЫ НАРЫСТАУ

Петрова М.В., Петров С.С.

Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет,
Стерлитамак, Россия

mariya.86.86@yandex.ru

Памятники природы – это небольшие участки охраняемой территории, включающие популяции редких видов или редкие сообщества. В Башкортостане насчитывается 150 таких памятников, составляющих, наряду с другими охраняемыми объектами, сеть охраняемых природных территорий (ООПТ). В степном Предуралье Республики Башкортостан число памятников природы невелико, т.к. этот регион максимально освоен и заселен, и антропогенные нагрузки здесь выше, чем в среднем по республике, что вызвало деградацию растительности. Тем более внимательное отношение должно быть к еще сохранившимся

редким фрагментам былой степной растительности с участием редких растений. Нами были отмечены редкие и исчезающие виды во флористическом составе каменистых степей памятника природы, расположенного в северо-восточной части Миякинского района – горы Нарыстау. На исследуемой территории нами были обнаружены пять видов, включенных в Красную книгу РБ. Три из них принадлежат к семейству Fabaceae – *Astragalus helmii*, *Hedysarum grandiflorum*, *Medicago cancellata*. А два вида относятся к семейству Poaceae – *Stipa lessingiana* и *S. korshinskyi*. Данные виды распространены большей частью в каменистых степях, на выходах известняков и песчаников, и являются петрофитами. Анализ экологических групп показал преобладание ксерофитов на исследуемой территории, что говорит о более засушливых условиях обитания. Об этом же свидетельствует принадлежность к классу *Festuco-Brometea* Br.-Bl. et Tx. 1943. Преобладание видов данного класса говорит о зональной приуроченности флоры к степной зоне. Все выше описанные виды являются эндемиками европейской части России. Лимитирующими факторами для данных видов являются низкая семенная продуктивность и плохая всхожесть семян. Кроме этого непосредственное влияние оказывает антропогенный фактор, в том числе распашка под сельскохозяйственные угодья и выпас скота. Кроме редких видов, нами было отмечено еще три вида – *Orostachys thyrsoiflora* (Crassulaceae), *Cleistogenes squarrosa* (Poaceae) и *Dianthus acicularis* (Caryophyllaceae) включенные в список объектов растительного мира и грибов, которые не включены в Красную книгу Республики Башкортостан, но нуждаются на территории республики в особом внимании к их состоянию в природной среде и мониторинге. Мы считаем, что необходимо продолжать дальнейший поиск сохранившихся популяций редких и исчезающих видов растений для организации их охраны, и вести мониторинг известных популяций.

РАДИАЛЬНЫЙ ПРИРОСТ ЖЕЛТО- И КРАСНОПЫЛЬНИКОВОЙ ФОРМ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ УСТЬЯ СЕВЕРНОЙ ДВИНЫ

Пинаевская Е.А., Тарханов С.Н.

ФГБУН Институт экологических проблем Севера УрО РАН, Архангельск, Россия

aviatorov8@mail.ru

Ширина годичных колец изменяется под влиянием экологических факторов, но деревья разных морфологических форм имеют и генетические различия, которые в той или иной степени оказывают влияние на динамику радиального прироста. Детально изучены две формы по окраске мужских стробиллов: желтопыльниковая (f. (var.) *sulfuranthera* Kozubow) и краснопыльниковая (f. (var.) *erythranthera* Sanio). Исследования проводили в сосняках кустарничково-сфагновых, произрастающих на болотных верховых почвах устья Северной Двины (северная тайга), на постоянных пробных площадях. На постоянных пробных площадях проводили отбор ядер древесины форм с разным цветом пыльников. Исходными данными для дендрохронологического анализа радиального прироста различных форм сосны послужили средние значения прироста, рассчитанные по измерениям ширины годичных слоев. Измерения ширины годичных слоев проводили методом световой микроскопии с точностью ± 0.05 мм. В ходе дендрохронологического анализа были получены значения ширины годичного слоя для каждой выделенной формы. Среднее значение годичного радиального прироста сосны с красным цветом пыльников ниже (0.38 ± 0.3 мм), чем у желтопыльниковой формы (0.5 ± 0.4 мм). Установлены достоверные различия (t-критерий, $P < 0.05$) для разных морфологических форм. Для деревьев каждой формы определены значения коэффициентов вариации и уровень изменчивости радиального прироста. Уровни изменчивости (в пределах дерева) для желтопыльниковой и краснопыльниковой форм близки (47 – 49 %) и соответствует очень высокому уровню изменчивости. Показатели чувствительности деревьев к воздействию внешней среды желтопыльниковой и краснопыльниковой форм сосны также близки (9 – 10 %). И выделенные формы не являются чутко реагирующими на условия среды. Цикличность в колебаниях ширины годичных колец разных форм сосны изучена по кривым «нормы прироста». Средние значения циклов для желтопыльниковой формы сосны составили 13.7 года между максимальными значениями прироста и 13.9 лет между минимальными показателями прироста, а средние значения для краснопыльниковой формы составили 8.7 лет между

максимальными значениями прироста и 8.5 лет между минимальными показателями прироста. Эти показатели близки к солнечному циклу или циклу Швабе-Вольфа. Рост различных форм сосны на избыточно-увлажненных почвах в устье Северной Двины оценен по основным показателям радиального прироста ствола. Для сосны с желтым цветом пыльников установлены более высокие средние значения абсолютных величин годового радиального прироста по сравнению с деревьями с красным цветом пыльников. Оценка по t-критерию Стьюдента показала достоверные различия радиального роста у морфологических форм, выделенных по цвету пыльников. Изменчивость годового прироста сосны разных форм соответствует очень высокому уровню изменчивости. В динамике ширины годовых колец разных форм сосны прослеживается цикличность, близкая к солнечному циклу.

ПРОДУКЦИЯ ВЫСОКОТРАВНЫХ ГЕЛОФИТОВ В ВЯТСКО-КАМСКОМ ПРЕДУРАЛЬЕ

Платунова Г.Р., Капитонова О.А.

ФГБОУ ВПО Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия

dyukina-guzel@yandex.ru

Исследование продукционных процессов высокотравных гелофитов позволяет выявить факторы, лимитирующие их развитие в различных мезоэкотопах. Объектами исследования выбраны наиболее распространённые в Вятско-Камском Предуралье виды: *Typha latifolia* L., *T. angustifolia* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *P. altissimus* (Benth.) Mabilie.

Цель работы: выполнить анализ продукционных процессов в популяциях высокотравных гелофитов.

Задачи: 1) выяснить зависимость формирования надземной фитомассы от гранулометрического состава грунтов (ил, глина, песок) и различной глубины воды; 2) изучить надземную фитомассу в зависимости от степени антропогенной трансформации экотопа; 3) исследовать влияние искусственного подогрева воды на формирование надземной фитомассы гелофитов.

Укосы надземной биомассы модельных видов проводили на участках с глубиной воды 0-0,5 м в августе в течение 2005-2009 гг.

Исследованиями показано изменение фитопродукционных характеристик видов в зависимости от действия различных факторов.

Наибольшую надземную абсолютно сухую фитомассу в период плодоношения для класса проективного покрытия 61-90% формирует *T. latifolia* (2,92 кг/м²), остальные виды – в 2-3 раза меньше: *T. angustifolia* – 1,54 кг/м², *P. australis* – 1,0 кг/м², *P. altissimus* 1,2 кг/м².

Установлено, что сырая и абсолютно-сухая фитомасса *T. latifolia* и *T. angustifolia* на илистых и глинистых субстратах больше, чем на песчаных.

При изучении биомассы рогозов в зависимости от степени обводнённости субстрата значимых отличий выявлено не было. Возможно, глубина не является лимитирующим фактором в продуцировании ими надземной фитомассы.

Для изучения зависимости биомассы рогозов от степени трансформированности экотопа все исследованные местообитания были разделены на 3 группы: естественные, антропогенно-трансформированные и искусственные. Статистический анализ данных показал, что на естественных экотопах абсолютно-сухая биомасса *T. latifolia* и *T. angustifolia*, была значимо меньше ($p < 0,05$), чем на трансформированных и искусственных.

Влияние температуры водной среды на биомассу гелофитов изучалась в зоне подогретых вод Ижевской ТЭЦ-1 и Кармановской ГРЭС. Разность температур опытного и контрольного участков составляла 10-11°C. Установлено влияние искусственного подогрева воды на увеличение надземной биомассы рогозово-тростниковых сообществ. Воздушно-сухой вес ассоциации *Typheto angustifoliae-Phragmitetum australis* в опыте составил 2,86 кг/м², в контроле – 2,18 кг/м².

БИОРАЗНООБРАЗИЕ МАКРОФИТОВ В ИНДИКАЦИИ ВОДЫ ОЗЕР ИЛЬМЕНСКОЕ И АРГАЯШ

Проскурина А.И., Гараев Д.Р., Крупнова Т.Г., Машкова И.В.

ФГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный университет (национальный
исследовательский университет), Челябинск, Россия

proskurina.95@list.ru

В настоящее время большое внимание уделяется изучению различных групп гидробионтов, населяющих пресные водоёмы. Важный компонент пресноводных биогеоценозов - макрофиты, к которым относятся высшие растения, приспособленные к жизни в водной среде, а также крупные водоросли. Целью данной работы стало изучение структуры сообществ макрофитов относительно нарушенных озёр Ильменского заповедника. Исследования проводили в июне - июле 2014 года. Для проведения исследований были выбраны семь станций в прибрежной зоне озера Ильменское и две станции в прибрежной зоне озера Аргаяш.

В ходе работы обнаружено 22 вида макрофитов: *Phragmites australis* (Sav.) Trin. ex. Stewd, *Carex lepornina*, *C. riparia*, *C. acuta*, *Alisma plantago-aquatica* L., *Potamogeton pussillus*, *P. luceus* L., *Lusimachia vilgaris* L., *Typha latifolia* L., *Luthrum salicaria* L., *Ceratophyllum demersum* L., *Muriophyllum spicatum* L., *Stratiotes aloides* L., *Nuphar lutea* (L.) Sw, *Scirpus lacustris* L., *Lemmatrisulca* L., *Hydrocharis morsus-renae* L., *Lemma minor* L., *Nymphaea candida* J. et Presl., *Elodea canadensis* Mics, *Nitella* sp., *Chara* sp.

Для индикаторного вида *Phragmites australis* (Sav.) Trin. ex. Stewd характерна положительная корреляция с содержанием углекислого газа и слабая - с содержанием ионов K^+ . Отрицательная корреляция выявлена с содержанием ионов Na^+ , кислорода и pH среды (в порядке возрастания). Аналогичная зависимость частоты встречаемости от показателей качества среды обнаружена для вида *Carex acuta*. Для вида *Carex riparia* выявлена слабая положительная корреляция с содержанием нитрат-ионов, и сильная положительная корреляция с соотношением ионов $HCO_3^- / SO_4^{2-} + Cl^-$, общим неорганическим азотом и ионами аммония. Частота встречаемости вида отрицательно коррелирует с общей жесткостью, содержанием ионов K^+ , а также соотношением катионов $Ca^{2+} + Mg^{2+} / Na^+ + K^+$.

Таким образом, в работе изучена видовая структура макрофитов озёр Ильменское и Аргаяш, исследована зависимость видового состава от трофического статуса водоёма и физико-химических показателей качества воды. Выявлены три вида, которые, по-нашему мнению, являются индикаторными для условий Южного Урала - *Phragmites australis* (Sav.) Trin. ex. Stewd, *Carex riparia*, *C. acuta*.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТЕМПЕРАТУРНЫХ НОРМ РАЗВИТИЯ У ДВУХ ПОПУЛЯЦИЙ БАБОЧКИ ДНЕВНОЙ ПАВЛИНИЙ ГЛАЗ *INACHIS IO* (LEPIDOPTERA, NYMPHALIDAE)

Рыжкова М.В., Лопатина Е.Б.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

mariya29ru@yandex.ru

Согласно теории жизненных циклов, параметры жизненного цикла, в том числе температурные нормы развития, должны адаптивно изменяться в соответствии с локальными особенностями климата. Под температурными нормами развития (ТНР) понимают коэффициент линейной регрессии (b), температурный порог развития и сумму градусо-дней. Коэффициент регрессии (иначе коэффициент термоллабильности развития) равен тангенсу угла наклона линии регрессии скорости развития по температуре к оси абсцисс, и определяет степень изменения скорости развития при возрастании или понижении температуры на $1^\circ C$, т.е. характеризует термоллабильность развития. Точка пересечения линии регрессии с осью абсцисс – это нижний температурный порог, при котором скорость развития условно равна 0. Сумма градусо-дней (равна $1/b$) характеризует общее количество тепла, необходимого для завершения развития.

На внутривидовом уровне у насекомых обнаружены разные формы пластичности ТНР (географическая, межсемейная и проч.). Кроме того, изменения ТНР могут быть вызваны действием факторов среды (длина дня, пища и т.д.).

Целью данной работы было изучение пластичности ТНР под влиянием различных фотопериодических условий у петербургской и брянской популяций *Inachis io*. Эксперименты проводили при 4 температурах и 3 фотопериодах. Развитие гусениц и куколок петербургской популяции отличалось большей термолабильностью, т.е. большим углом наклона линий регрессии к оси абсцисс, и более высокими порогами (12.3 и 10.9°C, для гусениц и куколок, соответственно), по сравнению с брянской (10.7 и 10.5°C). Значит, северная популяция способна к более быстрому развитию, по сравнению с южной, при относительно высоких температурах.

У брянской популяции мы обнаружили фотопериодическую модификацию ТНР гусениц: при сокращении длины дня наблюдалось постепенное повышение порога (10.7, 11.3 и 12.4°C при 18, 16 и 12 ч, соответственно) и термолабильности развития, т.е. возрастание угла наклона линии регрессии к оси абсцисс. Таким образом, в короткодневных условиях развитие происходило быстрее при температурах выше 17°C – точки пересечения линий регрессии для 12, 16 и 18 ч.

Реакция на короткий (12 ч) и длинный день (22 ч) у петербургской популяции была выражена слабее, однако имела сходную тенденцию.

В обеих популяциях обнаружено снижение веса куколок в короткодневных условиях. Средний вес куколок у брянской популяции был выше, по сравнению с петербургской, как при длинном (484.1 и 419.2 мг, соответственно), так и при коротком дне (428.0 и 392.8 мг, соответственно).

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-04-01156-а.

СООТНОШЕНИЕ ВРЕМЕННОЙ И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ВАРИАбельНОСТИ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ

Сморкалов И.А.

ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

ivan.a.smorkalov@gmail.com

Дыхание почвы, в силу своей комплексной природы, характеризуется значительной временной и пространственной вариабельностью. Если необходимо сравнивать скорости дыхания почвы на нескольких участках, возникает вопрос о сопоставимости результатов, полученных в разное время суток. В литературе указания на конкретное времени суток, в течение которого такое сопоставление возможно, сильно различаются. Цель данной работы – оценить возможность сопоставления материалов по интенсивности почвенной эмиссии CO₂ на разных участках, полученных в разное время суток.

Приведены предварительные данные, полученные в ходе круглосуточных измерений почвенной эмиссии CO₂ в лесном и луговом биотопах в июне (4 и 23) и августе (4 и 10) 2014 г. В каждом биотопе заложили по 3 постоянные пробные площади (ПП), на каждой из которых дыхание почвы измеряли полевым респирометром Li-8100A в 10 постоянных точках. В каждой точке эмиссию измеряли один раз в час в течение 24 часов. Всего за два тура в двух биотопах провели 2880 измерений.

Средние коэффициенты пространственной вариации (т.е. на каждой ПП в конкретный час суток) составили 14.6-30.1% для масштаба ПП и 19.8-24.8% – для масштаба биотопа. Средние коэффициенты временной вариации (т.е. в каждой точке измерения в течение суток) лежали в пределах 13.2-20.1%. Общая пространственно-временная вариация (в 10 точках измерения в течение суток) достигала 20.4-27.3% и 20.8-28.4% для масштаба ПП и биотопа соответственно, т.е. временная и пространственная изменчивость в рассмотренные периоды были близки между собой.

В масштабе точки измерения отклонения от среднесуточных значений достигали 80% и более, но в масштабе ПП и биотопа разница со среднесуточными значениями не превышала 30% и 25% соответственно. Анализ контрастов показал наличие значимых различий величины дыхания в отдельные часы от среднесуточных значений, причем набор таких временных

отрезков различался как между исследуемыми биотопами, так и в разные туры в одних и тех же биотопах.

Таким образом, предварительные данные показали, что при условии значительного количества пространственных повторностей, оценка дыхания почвы, полученная в любое время суток, будет отличаться от среднесуточных значений не более, чем на 30%, что не выходит за границы естественной вариабельности. Следовательно, сопоставление данных для разных участков, полученных в разное время в течение суток, возможно.

Работа завершена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований УрО РАН (проект № 15-12-4-27).

ФОРМИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ГЕОГРАФИЧЕСКИ ОТДАЛЕННОГО МАТЕРИАЛА *RHODIOLA ROSEA* L.

**Тагиманова Д.С.¹, Абдрашева К.К.¹, Купешев Ж.С.¹, Увашов А.О.¹,
Новаковская А.П.¹, Данилова А.Н.², Хапилина О.Н.¹**

¹РГП «Национальный центр биотехнологии»; ²РГП «Алтайский ботанический сад»,
Риддер, Казахстан

tagds@mail.ru

Вопросы сохранения и изучения биоразнообразия естественных популяций лекарственных растений, особенно в период интенсивной индустриализации фитохимических производств, являются весьма актуальными. В настоящее время при изучении биоразнообразия животных, растений и микроорганизмов наряду с традиционным подходом по изучению фенотипической изменчивости, используют методы молекулярно-генетических исследований. Высокий уровень дифференциации морфологических критериев у вида *Rhodiola*, обусловленный географической и генетической изоляцией популяций, требует тщательного изучения этого вида с использованием современных молекулярно-генетических маркеров. Для решения этой проблемы существует необходимость изучения полиморфизма и уровня генно-географической изменчивости данного вида в популяциях, представленных на территории Казахстана, и сравнить с другими географически отдаленными популяциями. Исследования полиморфизма кодирующих и не кодирующих последовательностей ДНК генов у представителей дикой флоры являются актуальными в мировой практике. Популяции родиолы выявлены на Алтае, Восточном Казахстане, а также в предгорьях Алатау. Формирование коллекции генетически отдаленного материала родиолы розовой является начальным этапом в изучении генетического полиморфизма этого вида. С этой целью были проведены экспедиционные исследования на территории казахстанского Алтая. Исследования проводили маршрутно-рекогносцировочным методом. Маршруты экспедиций охватывали 2 географических района: территорию Южного и Западного (Юго-Западного) Алтая. Координаты и абсолютная высота местонахождения ценопопуляции, из которой был взят материал живых растений для микрклонального размножения, были определены с помощью GPS-навигатора. В результате которых было установлено, что наиболее мощное развитие популяции родиолы розовой имеют в условиях благоприятного водно-температурного режима, на почвах с высоким содержанием гумуса в почве, что обуславливает пышное развитие растительности, это происходит в субальпийском и альпийском поясах. В результате экспедиционных исследований нами было выделено 8 групп ценопопуляций родиолы розовой, различающихся по степени проективного покрытия, структуре и численности особей, формирующих данные популяции. Из каждой группы растений, собранных из различных популяций, отбирали не менее 30-50 различных типов эксплантов. Сформированная коллекция географически отдаленных растений родиолы розовой будет пополняться представителями из других регионов Казахстана и России.

БИОИНДИКАЦИЯ ВОДЫ ОЗЕРА ИЛЬМЕНСКОЕ ПО БИОРАЗНООБРАЗИЮ ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА

Тимошенко О.Д., Биалова А.С., Машкова И.В., Крупнова Т.Г.
ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный университет» НИУ,
Челябинск, Россия

timoshenko.olcha@mail.ru

Особенности водных экосистем не только отражают качество вод и могут служить для индикации, но и определяют условия формирования чистой воды, скорость и эффективность самоочищения водоема. В связи с этим особую актуальность приобретают характеристика и оценка качества воды как показателя состояния водных экосистем в целом.

Предметом наших исследований стало качество воды озера Ильменское. Озеро расположено на южной границе Ильменского заповедника и находится на административной территории г. Миасса. Относится к средним озерам по площади, общая длина озера 3,4 км при наибольшей ширине в 1,8 км. Исследования видового состава и количественных характеристик фитопланктона водоема проводились в 2013-2014 гг. Выбор точек исследования был обусловлен значительными расхождениями в степени антропогенного воздействия, видового и количественного состава фитопланктонных организмов.

В работе использован маршрутный метод и стандартные гидробиологические методики. Нами была использована методика расчета индекса сапробности Р. Пантле и Г. Букка. Данный метод учитывает относительную частоту встречаемости гидробионтов h и их индикаторную значимость s . Индикаторную значимость s и зону сапробности определяют по спискам сапробных организмов. Величина h_i находится из шестиступенчатой шкалы значений частоты и определяет относительное обилие видов.

В ходе выполнения работы выяснили, что уровень эвтрофированности оз. Ильменское в 2014 вырос по сравнению с 2013 годом. Физико-химические показатели по 5 точкам озера позволяют сделать вывод о том, что вода в озере Ильменское соответствует β - мезосапробной зоне и соответственно классу качества воды – удовлетворительно чистая, категория трофности – эвтрофная. Пределы индекса самоочищения колеблются от 0,7 до 0,9.

В результате исследований нами было зарегистрировано всего 31 вид фитопланктона, относящихся к различным жизненным формам, некоторые из которых являются показателями загрязненности воды. Постоянные представители зеленых водорослей *Coenococcus planktonicus*; сине-зеленых водорослей *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena flos-aquae* f.; золотистых водорослей *Dynobryon divergens*; диатомовых водорослей *Aulacoseira granulate*, *Synedra ulna*. Наиболее редко встречаются представители сине-зеленых водорослей *Woronichinia naegelianae*, *Oscillatoria limosa* f.; зеленых водорослей *Dispora crucygenicides*, *Botrococcus braunii viridis*, *Spirogyra* sp., *Planktosphaeria gelatinosa*, *Coenochloris ovalis*, *Ulotrix variabilis*; золотистых водорослей *Dinobryon sociale americanum*; желто-зеленых *Tribonema viridis*.

Было выяснено, что наиболее разнообразны отделы сине-зеленых, зеленых и диатомовых водорослей, в составе которых отмечено по 27–28 % от общего числа видовых таксонов. Значительно беднее представлены эвгленовые (9 %), Доли представителей остальных отделов не превышали 5%. Преобладающая часть встречающегося фитопланктона широко распространена в континентальных водоемах (виды-космополиты). Планктонные формы составляют около 59 % от общего числа видов, для которых известно традиционное местообитание. На долю бентосно-планктонных и бентосных форм приходится соответственно по 27 % и 14 %.

ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ МАРГАНЦА НА РАСТЕНИЯ *TRITICUM AESTIVUM*

Ткач Е.П., Вакерич М.М., Николайчук В.И.

ГВУЗ Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина

tkachelena84@gmail.com

Марганец, как микроэлемент, является необходимой составляющей в построении и жизнедеятельности растительного организма. Все растения отличаются специфической

потребностью в марганце. Реакция их, как на дефицит, так и на избыток микроэлемента во многом зависит от видовых отличий. Особую потребность в марганце имеют зерновые. В качестве марганцевой подпитки, из солей часто применяется водный раствор сульфата марганца. Важным является определение диапазона концентрации поступления марганца, так как при высоких концентрациях он проявляет себя как тяжелый металл (ТМ) и может привести к общим, физиологическим и биохимическим изменениям. Целью работы было определение влияния марганца на ростовые процессы озимой пшеницы сорта Артемида (всхожесть семян, линейный рост, развитие корневой системы и накопление биомассы в фазе кущения), при увеличении концентрации марганца путем предпосевной обработки семян сернокислым марганцем ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$).

Предпосевную обработку семян проводили сернокислым марганцем в диапазоне концентрации от 0,001 - 1,0%. Проращивали в лабораторных условиях на дерново-подзолистой почве. Повторяемость трехкратная. В качестве контроля - вариант без обработки. Результаты изучения всхожести показали, что действие концентрации в пределах 0,001 - 0,01% было стимулирующим. Линейный рост также был выше контрольного при применении данных концентраций. В ходе исследования накопления массы проростков в фазе кущения выявили прямую зависимость от действия концентрации сернокислого марганца. Обработка семян 0,001 и 0,01% $MnSO_4$ стимулировало рост, в сравнении с повышенными концентрациями (0,1 - 1,0%), при которых эффект был ингибирующим. Так как корневая система является наиболее чувствительным органом к действию ТМ, масса ее является показателем, который отображает общую картину влияния соли марганца. При повышении действующих концентраций (0,01-1,0%) наблюдали угнетающее влияние на корнеобразование и снижение показателя массы.

Результаты исследований указывают на то, что до определенного критического значения концентрации, сернокислый марганец оказывает стимулирующее влияние, а в случае превышения "предельного" значения проявляется угнетение ростовых процессов. Оптимальными для предпосевной обработки семян озимой пшеницы являются концентрации в пределах 0,001 - 0,01% $MnSO_4$.

МЕДОНОСНЫЕ РАСТЕНИЯ ГОРЫ КУНГУРБУКА ЧАТКАЛЬСКОГО ХРЕБТА

Тожибоев М.У.

Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

mtojiboyev@list.ru

Флора Узбекистана богата и насчитывает более 4400 видов сосудистых растений. Во флоре особое место занимают полезные дикорастущие растения. Растительные ресурсы Узбекистана представлены кормовыми – 1700 видов, пищевыми – более 350 видов, лекарственными – около 600 видов, эфирно-масличными – 650 видов, красильными 400 видов, декоративными – около 300 видов, дубильными - более 400 видов, медоносными – 668 видов.

Растительный покров горы Кунгурбука Чаткальского хребта по богатству и оригинальности флористического состава занимает особое место Юго-Западного Тянь-Шаня. По последним данным, узбекистанская часть Юго-Западного Тянь-Шаня представлена 2056 видами, относящимися к 647 родам и 104 семействам. В горном поясе сосредоточена большая медоносная флора. Эта закономерность наблюдается и в изученном районе. В поясе предгорья и горы, которые составляют основу горы Кунгурбука, распространены по предварительным данным, 168 видов медоносных растений (27,2%).

По количеству медоносных видов в горах Кунгурбука первое место занимает семейство астровые (сложноцветные), последующее - розоцветные, бобовые, капустные (крестоцветные), сельдерейные (зонтичные), бурачниковые, губоцветные (яснотковые). Основными источниками медосбора являются всего 100 видов. Из них, во флоре исследуемого района встречаются каперсы (*Capparis spinosa*), клевер (*Trifolium pratense*), гулявник (*Sisymbrium altissimum*), синяк (*Echium vulgare*), трубкоцвет (*Solenanthes circinnatus*), прангос (*Prangos pabularia*), ферула (*Ferula tenuisecta*), оносма (*Onosma dichroantha*), псоралея (*Psoralea drupacea*), у которых медопродуктивность больше, чем у других видов.

Среди древесно-кустарниковых пород наиболее медоносными являются виды родов *Rosa* L., *Spiraea* L., *Lonicera* L., *Cotoneaster* Medik., *Amygdalus* L., *Crataegus* L., *Salix* L.

В дальнейших работах будут исследованы закономерности распространения медоносных видов растений, ценопопуляция и биологические ресурсы отдельных видов растений в горах Кунгурбука.

СТРУКТУРА РАСТИТЕЛЬНОСТИ И ОСОБЕННОСТИ ДЕГРАДАЦИИ ПУСТЫННЫХ ЭКОСИСТЕМ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА НА РАЗНОВОЗРАСТНЫХ МЕСТАХ ПРИЗЕМЛЕНИЯ ПЕРВЫХ СТУПЕНЕЙ РАКЕТ-НОСИТЕЛЕЙ «СОЮЗ»

Феодоритов В.М.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

biogeodvijenie@yandex.ru

На юго-западе Карагандинской области Республики Казахстан на территории районов падения первых ступеней ракет-носителей «Союз» проведены исследования структуры растительности и особенностей трансформации экосистем на местах приземления ступеней ракет. Летом 2014 года были обследованы 10 разновозрастных (2006-2014 гг.) мест приземления первых ступеней. В каждом месте приземления было проведено описание растительности на контрольной (в центре места падения) и фоновой (не затронутой техногенным воздействием от падения) площадке. Также в зоне техногенных нарушений была определена структура растительности с выделением степени деградации сообществ.

В задачи работы входило: 1) определение техногенного воздействия ракетно-космической деятельности на различные экосистемы; 2) выявление особенностей сукцессионных процессов на местах падения различного возраста; 3) определение значимости техногенного воздействия от падения ракет на экосистемы в условиях действия традиционных факторов антропогенной нагрузки в полупустынной зоне (регулярные пожары, перевыпас).

Были выделены четыре комплекса растительности: ежовниково-полынный, ковыльно-полынный, рогачево-полынный, климакоптерово-полынный, различающиеся по положению в ландшафте. Для каждого комплекса был выделен набор микроценозов, разделенных на четыре степени деградации. Разделение основано на ценопопуляционных, флористических и структурных критериях состояния микроценозов. В отдельных случаях микроценозы рогачево-полынного и климакоптерово-полынного комплексов были отнесены к высоким степеням деградации (без учета влияния ракет) в силу воздействия перевыпаса скота и сезонных пожаров в местах падения.

На основе полученных данных были сделаны выводы:

- техногенные сукцессии, вызванные падением ступеней ракет-носителей и эвакуацией их фрагментов, определяется: возрастом места падения и сезоном приземления, характером приземления ступени (наличие взрыва при ударе), ландшафтными особенностями и степенью хозяйственной нагрузки в месте падения;

- ежовниково-полынные сообщества на каменистых почвах вершин скальных гряд после максимальной техногенной нагрузки могут восстанавливаться до исходного состояния более 20 лет, в то время как ковыльные сообщества на мощных бурых почвах вершин водоразделов восстанавливаются менее чем за 10 лет;

- воздействие от ракет сильнее проявляется в уязвимых коренных кустарниковых сообществах, а в фитоценозах, нарушенных в результате перевыпаса и сезонных пожаров, оно практически незаметно.

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА РЕЗУЛЬТАТЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЁННЫХ ТЯЖЁЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Фокина А.И., Олькова А.С., Лялина Е.И., Кабалоев З.В.

ФГБОУ ВПО Вятский государственный гуманитарный университет, Киров, Россия

annushka-fokina@mail.ru

При сопоставлении данных химического и токсикологического анализов почвы часто возникает ситуация отсутствия острой токсичности на фоне превышения нормативного

содержания загрязняющих веществ (ЗВ). Одна из основных причин этого – богатство почвы органическим веществом, специфические и неспецифические соединения которого являются лигандами при образовании комплексных соединений. Эта особенность почвы формирует её устойчивость к загрязнению, снижая биодоступность ЗВ либо их токсичность в виде комплексных соединений (Половецкая и др., 2012; Стравинскене, 2012; Тютюкова и др., 2014).

Такой эффект установлен нами при исследовании почв, отобранных вблизи одного из металлургических предприятий г. Владикавказа. Выявлено, что количество тяжёлых металлов значительно превышают ПДК: в десятки раз по валовому содержанию Pb и Zn (Зангелиди, 2009; Кабалоев, 2014). Однако результаты биотестирования данных образцов с помощью инфузорий *Paramecium caudatum* и бактериальной тест-системы «Эколюм» показывают, что пробы нетоксичны или обладают средней токсичностью.

Двигательная активность *P. caudatum* в большинстве тестируемых вытяжек угнеталась более чем на 40% (средняя степень токсичности). Однако степень токсичности относительно высокого содержания ТМ в почве оказывается несопоставимо низкой. Такое явление можно наблюдать благодаря действию органических и минеральных лигандов в почве, связывающих ТМ, таким образом, ослабляя их токсическое действие. В модельных опытах нами подтверждено, что биолиганды, например, глутатион (GSH), при мольном соотношении с ионами меди Cu:GSH, равном 1:4, снижает токсичность среды и приближает ее к контрольным значениям.

Биохемилюминесценция (БХЛ) бактериальной тест-системы «Эколюм», напротив, возрастала в опытных пробах по сравнению с контрольной средой (вода). Эффект может быть обусловлен различиями в реакциях, лежащих в основе тест-функции. Многие ионы ТМ образуют с биолигандами в почве соединения, способные катализировать процессы окисления органических веществ, таким образом, влияя на аналитический сигнал – люминесценцию исследуемой среды. Интенсивность люминесценции усиливается, тем самым, «занижая» токсичность среды. Однако, это нельзя считать истинным снижением токсичности, так как одновременно с усилением интенсивности БХЛ активно протекают отрицательные для живого организма процессы, например, усиливается перекисное окисление липидов, снижается активность дегидрогеназ и т. д. Сведения, получаемые данной тест-системой, оказываются ложными.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук МК-3964.2015.5.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ КЛАССА ОПАНОСТИ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД

Харченко В.В., Кострюкова А.М.

ФГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный университет (национальный
исследовательский университет), Челябинск, Россия

milaya1593@mail.ru

В данной работе представлены результаты исследования токсичности осадков, образующихся после механической и биологической очистки сточных вод. Оценка токсичности проводилась методом биотестирования с использованием в качестве тест-объектов культуры *Daphnia magna* St. и *Chlorella Vulgaris* Beijer. Цель работы: оценить токсичность осадков сточных вод, образующихся после механической и биологической очистке на предприятиях водоснабжения и водоотведения Южного Урала и определить их класс опасности. Объекты исследования: осадки сточных вод, образующихся после механической и биологической очистке на предприятиях МУП «ПОВВ» г. Челябинска, п. Новосинеглазово и г. Южноуральска. Для биотестирования использовали следующую методику. Вначале готовили водную вытяжку из отхода, затем – ряд разбавлений водной вытяжки отхода. В ёмкости с разбавлениями водной вытяжки отхода вносили определенное количество тест-объектов – рачков дафния *Daphnia magna* St. и водоросли хлорелла *Chlorella Vulgaris* Beije. Через определенное время экспозиции (48 часов для дафний и 22 часа для хлореллы) делали заключение о степени токсичности отхода (присвоение класса опасности отходу) по смертности рачков дафния и изменению оптической плотности водоросли хлорелла. Исследования проводили в трех параллелях. В

качестве контроля использовали дистиллированную воду. Результаты анализа показывают, что все осадки относятся к 4 классу опасности. Таким образом, исследования методом биотестирования токсичности осадков сточных вод, образующихся после механической и биологической очистки на предприятиях МУП «ПОВВ» г. Челябинска, п. Новосинеглазово и г. Южноуральска, характеризуют их как малоопасные (4 класс).

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕТАЛЛИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В РАСТЕНИЯХ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Чаплыгин В.А., Минкина Т.М., Маштыкова Л.Ю.

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

tminkina@mail.ru

Известно, что естественная травянистая растительность обладает способностью аккумулировать в своей надземной части и корневой системе тяжёлые металлы (ТМ).

Целью данной работы являлось изучение аккумуляции элементов растениями пижмы обыкновенной под влиянием аэрозольных выбросов Новочеркасской ГРЭС (НчГРЭС).

Объектом исследования являлась пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare L.*), растение, широко распространенное в степной зоне Ростовской области. Мониторинговые площадки, с которых отбирались образцы, расположены на участках целины или залежи на разном удалении от Новочеркасской ГРЭС (1,2 - 20,0 км) по линии преобладающего С-З направления ветра.

Образцы отбирались во второй декаде июня, в фазу массового цветения. Одновременно с растениями отбирались образцы почвы для последующих анализов и расчетов коэффициента накопления (КН) как отношения содержания ТМ в растении к содержанию их подвижных форм в почве. Отбор надземной и корневой частей растений проводился согласно общепринятой методике полевого опыта. Содержание ТМ в корнях и надземной части пижмы было определено методом сухого озоления в 20% растворе HCl с атомно-абсорбционным окончанием.

Для пижмы установлено превышение разработанного для кормов максимально допустимого уровня (МДУ) для Pb, Cd и Ni на большинстве мониторинговых площадок. В условиях наибольшей техногенной нагрузки (1,2 км от источника выбросов) содержание металлов в надземной части располагалось следующим образом (мг/кг):

Mn (107) > Zn (41) > Cr (18) > Cu (10) > Ni (7) > Cd, Pb (1)

Рассчитанные для данных ТМ значения КН показывают интенсивное поступление металлов в растения пижмы обыкновенной. На мониторинговой площадке, расположенной в 1,2 км от НчГРЭС, наблюдается активная аккумуляция всех изучаемых элементов в надземной части пижмы, что является результатом воздействия выбросов НчГРЭС.

В условиях техногенной нагрузки (1,2 км) в соответствии с КН металлы располагались в следующем порядке:

Cd (5,3) > Cu (2,7) > Cr (2,5) > Ni (1,9) > Zn, Mn (1,6) > Pb (0,1)

Наибольшая аккумуляция в надземной части пижмы наблюдается для Cd, наименьшая – для Pb.

Установлено загрязнение пижмы обыкновенной Pb, Cd и Ni. Наибольшее содержание ТМ в надземной части растений пижмы наблюдается на мониторинговых площадках, наиболее близко расположенных к НчГРЭС. Пижма характеризуется наибольшей аккумуляцией Cd и Cu среди изучаемых растений. Работа поддержана грантом РФФИ № 14-05-00586 А.

ФИТОИНДИКАЦИЯ ГАЗОДЫМОВОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ Г. БИЙСКА

Шабанова Н.Ю., Зубкова О.А.

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Томск, Россия

schabanowa.nataliya@yandex.ru

Актуальность выполненной работы обусловлена высоким уровнем загрязнения атмосферы в г. Бийске (Алтайский край). Степень газодымового загрязнения городского воздуха оценивали по морфологическим показателям хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), произрастающей в пяти различных районах г. Бийска. Исследовалась хвоя 2-го года жизни по методике С.В. Алексеева и А.М. Беккера с учётом двух главных показателей: степень повреждения кутикулы и степень усыхания. Полученные результаты переводились в трёхбалльную систему. Статистическая обработка данных проводилась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Наивысший балл повреждения кутикулы был зафиксирован для хвои сосны, произрастающей на двух пробных площадках: юго-западной промышленной зоне и граничащем с ней микрорайоне «АБ» – 2,8 балла. Наименьшей степенью повреждения кутикулы (около 1,6 балла) характеризовалась хвоя сосны в районе моста через р. Бия на северо-восточной окраине города. Промежуточные результаты повреждения кутикулы были получены на двух пробных участках: оз. Канонерское (юго-восточная окраина) и участок Чуйского тракта (восточная окраина), – в среднем 2 балла. Различия между тремя описанными группами участков были статистически значимыми. Пробные участки по степени усыхания хвои распределились следующим образом: 1-я группа (Северо-Западная промзона, микрорайон «АБ») – 2,9 балла; 2-я группа (участок Чуйского тракта) – 2 балла; 3-я группа (оз. Канонерское и район моста через р. Бию) – 1 балл. Различия между группами статистически значимы.

Полученные результаты показали высокую степень соответствия выбранных биоиндикационных показателей данным прямым измерений уровня атмосферных загрязнений, проведенных ГУ «Комплексная лаборатория мониторинга загрязнения окружающей среды», г. Бийск.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РЕЛЬЕФА СОЧИНСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА

Шевченко А.С.

ФГБОУ ВПО Поволжский государственный технологический университет,
Йошкар-Ола, Россия

shevchenkoas150393@gmail.com

Морфометрический анализ рельефа позволяет оценить любую территорию, предоставить прогноз на будущее развитие в области развития рекреации, то есть рационального использования природных ресурсов.

До настоящего времени для территории Сочинского национального парка (СНП) отсутствуют материалы по количественным характеристикам рельефа и его анализу. Между тем эти исследования крайне необходимы для оценки роли рельефа в развитии лесных культур, биоразнообразия и рекреационного туризма на исследуемой территории.

Использовались такие методы, как картографические, математические, статистические и аналитические.

Рекреационное зонирование Сочинского национального парка и анализ рекреационного потенциала показал, что территория благоприятна для горно-пешеходного, горнолыжного, приключенческого туризма, спортивного ориентирования, терренкура, создание экологических троп. Возможен конный туризм, а также мото-, вело- и автотуризм на более ровной поверхности, аттрактивность (привлекательность) рельефа высокая. В то же время, постройка фундаментальных туристических объектов здесь нецелесообразна.

Основные результаты работы имеют практическое значение для обеспечения устойчивого развития, освоения и рационального использования рекреационных ресурсов территории национального парка.

Ключевые слова: геоморфология, морфометрия, генетические формы рельефа, рекреационные системы, глубина расчленения рельефа, экспозиция склонов, рекреационное зонирование территории.

ПЕРВЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ДВУХ КАРЬЕРАХ В КАЛУЖСКОЙ И ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТЯХ

Шиганова Д.А.

ФГБОУ ВПО Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского,
Калуга, Россия

darya.shiganowa@yandex.ru

Добыча полезных ископаемых является одним из наиболее мощных воздействий хозяйственной деятельности человека на природные экосистемы, в результате которого уничтожаются естественные сообщества, изменяется рельеф и водный режим. Для исследования процессов восстановления растительности были выбраны два зарастающих карьера на местах добычи известняка и щебня в Калужской (Турынинский) и Тульской (Мышегский) областях. Цель исследования заключалась в изучении структурно-динамических аспектов формирования травяно-кустарничкового яруса карьеров.

Обследование проводилось в середине августа 2014 года. На каждом карьере были заложены и описаны 10 постоянных учетных площадок (10x10м). На карьере выделяли верх, среднюю часть и подножье склонов, а также донную часть.

Всего на двух карьерах определен 31 вид сосудистых растений. На Турынинском карьере было отмечено 12 видов, на Мышегском - 24 вида. Общими видами для описанных карьеров являются *Calamagrostis epigeios*, *Tanacetum vulgare*, *Carduus acanthoides*, *Echinops sphaerocephalus*, *Achillea millefolium*.

Растительный покров Турынинского карьера мозаичен – заросшие участки чередуются с незаросшим открытым грунтом. На Мышегском карьере растительность распределена более равномерно, но с сохранением выраженной мозаичности на верхних участках. Проективное покрытие травянистых растений оценивалось по шкале относительного обилия Друде.

На карьерах в травянистом ярусе доминируют *Calamagrostis epigeios*, *Tanacetum vulgare* (на Турынинском карьере доминантом также выступает *Tussilago farfara*), содоминанты - *Echium vulgare*, *Echinops sphaerocephalus* и *Carduus acanthoides*.

На верхней части отвала Турынинского карьера сформировались участки с древесным ярусом, образованным *Hippophae rhamnoides*. В верхней части склона отвала на Мышегском карьере древостой образует *Betula pendula*, на южной стороне верхней части склона отмечен подрост *Betula pendula* с единичным включением *Pinus sylvestris*.

Анализ распределения растений по эколого-ценотическим группам показал, что на обследованных карьерах преобладают мезофиты (от 59% на Турынинском карьере до 63% на Мышегском). Также можно отметить, что на карьерах доминируют растения мезотрофной группы, т.е. растения, обитающие на почвах с умеренным содержанием элементов минерального питания, и лугово-степная группа видов. Среди жизненных форм преобладают гемикриптофиты (62%-75%), растения, почки возобновления которых или верхушки побегов находятся на поверхности почвы.

ОСТРАКОДЫ ПОЗДНЕГО БАЙОСА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ КАК ПАЛЕОТЕМПЕРАТУРНЫЕ ИНДИКАТОРЫ

Шурупова Я.А.¹, Тесакова Е.М.²

¹ФГБОУ ВПО Московский государственный гуманитарный университет им.
М.А. Шолохова, ²ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

shyrypkina@yandex.ru; ostracon@rambler.ru

Остракоды одни из лучших индикаторов экологических условий современности и геологического прошлого. Их зависимость от температуры водных масс использована нами для реконструкции палеообстановок в геологическом разрезе скважины Сокурская (северная окраина Саратова), мощностью 60 м, где вскрываются позднебайосские (средняя юра) глинисто-песчаные отложения и содержатся комплексы остракод хорошей сохранности. Проанализировано 68 различных уровней. Определено 30 форм: 10 до вида, 20 в открытой номенклатуре, включая родовую. Используя данные о температурных предпочтениях различных родов (Тесакова, 2014), подсчитано процентное соотношение тепловодных (тетических), холодноводных (арктических) и эвритермных таксонов. В каждом образце подсчитывалось количество створок, разделялось по температурным группам (соответственно родовой принадлежности), суммировалось общее количество и анализировалось их соотношение. В результате выделены четыре различных интервала. Первый (50-60 м) - теплый. Характеризуется исключительно тетическим влиянием, арктические элементы отсутствуют. Второй (41-49 м) – холодный, с явным преобладанием арктических остракод, незначительным содержанием эвритермных и – редко – теплолюбивых родов. Третий (25-39,5 м) – смешанный: одновременно присутствовали тетические и арктические компоненты, с периодическим преобладанием тех или других. Четвертый (2-24 м) – теплый. Отсутствуют холодноводные рода, преобладают тетические, с некоторой долей эвритермных. Описанная картина объясняется изменением палеоэкологической ситуации на протяжении позднего байоса, связанной со сменой направлений морских трансгрессий, наступавших на Русскую плиту (РП) с трех сторон. Первый интервал отвечает началу трансгрессии с юго-запада через Днепровско-Донецкую впадину (ДДВ), о чем свидетельствуют общие с ДДВ таксоны. Второй интервал связан с открытием северного коридор, притоком арктических вод, где периодически встречаются иммигранты из Западной Европы, т.е. западный приток, ослаб, но продолжал функционировать. Позднее влияние теплого западного течения возрастает (приток с севера сохраняется) – третий интервал. Затем северная трансгрессия прекратилась, на РП поступала только тетическая водная масса – четвертый интервал. Сначала работало западное течение (таксоны, общие с Англией, Германией и ДДВ) (10-24 м), потом дополнительно открылся юго-восточный коридор через Прикаспий (остракоды из Мангышлака) (2-8,5 м).

Работа поддержана грантом РФФИ №15-05-03149.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТИ У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД НА ПРИМЕРЕ ВИДОВ РОДА *EULIMNOGAMMARUS* В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ФРАКЦИЙ НЕФТИ

Щапова Е.П.^{1,2}, Котлов М.Ю.^{1,2}, Широкова Ю.В.¹, Аксенов-Грибанов Д.В.²

¹ФГБОУ ВПО Иркутский государственный университет; ²НИИ биологии, ФГБОУ ВПО
Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

shchapova.katerina@gmail.com

Озеро Байкал является одним из уникальных природных объектов, флора и фауна которого отличается высокой степенью эндемизма и биоразнообразия в связи с чем, в условиях повышенной антропогенной нагрузки изучение роли неспецифических механизмов стресс-резистентности байкальских организмов к неблагоприятным условиям окружающей среды приобретает все большую актуальность.

Особое место отводится нефтепродуктам, как одним из наиболее распространенных загрязнителей вод и донных отложений. Нефтепродукты являются одними из техногенных веществ в природной среде и отнесены в категорию особо опасных соединений.

Данная работа посвящена оценке влияния водорастворимых нефтепроизводных на активность ферментов антиоксидантной системы (пероксидазы, глутатион S-трансферазы, каталазы) и показатели перекисного окисления липидов у байкальских эндемичных амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* и *E. cyaneus*.

Влияние токсикантов на неспецифические механизмы стресс-резистентности оценивали в ходе экспозиции амфипод в байкальской воде с содержанием привнесенных государственных стандартных образцов (ГСО) водорастворимых фракций нефти в концентрации 50 мкг/дм³, что является ПДК для водоемов рыбохозяйственного назначения. Длительность экспериментов составляла 24 часа.

Показано, что концентрация привнесенных ГСО в количестве 50 мкг/л (ПДК_{р/х}) вызывает кратковременную активацию системы антиоксидантной защиты у обоих видов, что свидетельствует о нарушении окислительных процессов в организме гидробионтов и развитии оксидативного стресса. Развитие данных процессов у водных организмов связано с повреждением клеточных мембран и нарушением их барьерно-транспортных функций, а также с развитием перекисного окисления липидов.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов МИНОБРНАУКИ РФ (ГЗ 1354–2014/51), РНФ (14-14-00400), CRDF (FSCX-15-61168-0), РФФИ (14-04-00501, 15-04-06685), ФГБОУ ВПО «ИГУ». Участие Щаповой Е.П. в конференции реализовано при поддержке фонда М. Прохорова по программе «Академическая мобильность».

БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *HORDEUM SPONTANEUM* С.КОСН.

Эрматова Г.З., Имирсинова А.А.

Андижанский государственный университет, Андижан, Узбекистан

aziza1975@mail.ru

Территория Узбекистана является одной из богатейших ботаника-географических регионов Средней Азии. Многие виды хлебных злаков республики играют важную роль в сложении естественных травянистых растительных группировок. Некоторые виды хлебных злаков уже введены в культуру в качестве кормовых растений. Многие хлебные злаки имеют декоративное, техническое, лекарственное значение, а также используются в качестве закрепителей песков и различного рода насыпей.

В настоящее время велик интерес к вопросам репродуктивной биологии, что объясняется решающей ролью процессов воспроизводства и размножения для поддержания многообразия живой природы.

Целью наших исследований является изучение репродуктивной биологии некоторых видов трибы Triticeae Dum. сем. Poaceae Barnh. флоры Узбекистана.

Фенологические наблюдения проводились методом Г.Н. Зайцева (1973, 1974) - и качество и масса 1000 семян определены по: «Международные правила» (1969), «Совершенствование метода качественной оценки семян» (1971), «Методические указания по семеноведению интродуцентов» (1980). Полученные в опытах материалы подвергли математической обработке общепринятыми методами (Доспехов, 1985; Лакин, 1990).

По литературным данным, высота стебеля *H. spontaneum* С.Косч. составляет 30-100 см и является прямым, голым и гладким. Влагалища листьев голые и гладкие. Язычок до 1 мм дл., разорванный, с ушками. Листья плоские, тонкие, сверху и снизу остро-шероховатые. Колос слегка сжатый, двурядный, длиной 4,5-9 см и шириной 6-8 мм., слегка поникающий; ось по ребрам опушенная, очень ломкая. Колоски зеленые, и в каждом колоске находятся по 3 зерна. Колосковые чешуи линейно-шиловидные, густо-волосистые, остистые, вместе с остью 1,5-1,7 см дл. Нижняя цветковая чешуя среднего колоска широко-эллиптическая, голая; ость шероховатая, 7-14,5 см дл.; боковых колосков - безостая, наверху закрученная.

Растёт в равнинах по сухим холмам и по склонам в предгорьях

Исследуемый нами исследуемый вид *Hordeum spontaneum* С.Коч., собранный в мае месяце 2014 года в горных местностях Ангрена, является однолетним растением.

Листья растения гладкие. В мае и июне расцветает и даёт семена. Место обитания среди растений гор и в горной местности. Цветет и плодоносит в мае-июне. Результаты исследования показывает, что общая средняя длина колосов *H. spontaneum* С.Коч. составляет 18,5 см, длина одного зерна (с волоском вместе) 14,1 см, количество зерен в колосе 10 штук. Длина зерен составляет 1 см, а ширина 0,3см. Наблюдается хорошая всхожесть семян при неблагоприятных условиях.

Мы поставили перед собой задачу в высеять на экспериментальной площадке семена растения данного вида и исследовать его биометрические характеристики для сравнительного анализа, так как вышеуказанные полученные результаты не соответствуют показателям из литературы. После этих опытов мы сможем объяснить влияние экологических условий на качество семян растения.

РОЛЬ УТИНЫХ ПТИЦ В РАССЕЛЕНИИ ТРЕМАТОДЫ *BILHARZIELLA POLONICA* (KOWALEWSKI, 1895) LOOSS, 1899 НА ТЕРРИТОРИИ КАРЕЛИИ

Яковлева Г.А., Лебедева Д.И.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

galina_il87@mail.ru

В последние годы значительно вырос интерес к проблеме церкариозов среди различных исследователей-паразитологов, связанный с резко возросшим числом зарегистрированных случаев «зуда купальщиков». Данное заболевание регистрируется во многих уголках России и приводит к целому ряду негативных последствий. Основными гельминтами, которые вызывают шистосоматидные дерматиты, являются личиночные формы (церкарии) представителей сем. Schistosomatidae.

С 2011 по 2014 гг. на территории Карелии было проведено гельминтологическое исследование 104 экз. Утиных, относящихся к 12 видам: кряква (41 экз.), обыкновенный гоголь (20 экз.), чирок-свистунок (13 экз.), свиязь (7 экз.), морская чернеть (6 экз.), морянка (6 экз.), средний крохаль (3 экз.), хохлатая чернеть (2 экз.), широконоска (2 экз.), синьга (2 экз.), шилохвость (1 экз.), чирок-трескунок (1 экз.). Сем. Schistosomatidae в полученном материале представлено одним видом – *Bilharziella polonica*. Церкарии шистосоматид могут проникать в кожу практически всех теплокровных животных, но до половозрелой стадии развиваются только в своих специфичных хозяевах (водоплавающих птицах). В неспецифичных – они прорывают довольно длительные миграции по кровеносной системе и погибают, вызывая значительные патологические изменения в организме.

Трематоды *Bilharziella polonica* обнаружены у 34 экз. утиных птиц из 104 обследованных (33 %). Количество паразитов варьировало от 1 до 120 экз. в одной особи (в среднем 15 экз. на каждую зараженную особь). Трематоды выявлены у 5 видов утиных: кряква, обыкновенный гоголь, широконоска, чирок-свистунок, чирок-трескунок. Анализ зараженности утиных птиц гельминтами *Bilharziella polonica* показал, что максимальная экстенсивность инвазии (ЭИ) выявлена у кряквы и чирка-свистунка. Максимальная интенсивность инвазии (ИИ) зарегистрирована у кряквы (120 экз.) на оз. Пертозеро.

По полученным данным церкариоз регистрируется на всех исследованных водоемах: Ладожском озере (Олонецкий район), Онежском озере (Прионежский район), оз. Пертозеро, оз. Ледмозеро. Одним из наиболее зараженных водоемов отмечено оз. Пертозеро (все исследованные особи кряквы были заражены шистосоматидами с наибольшими показателями ИИ, более 100 экз. на особь).

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось по гранту Президента РФ МК-5350.2015.4 и из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ темы 51.4, № г.р. 01201358738).

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРИБОРОСТРОЕНИЕ»

THE OPTIMAL RATIO OF CARBON DIOXIDE AND NITROGEN FOR ALGAE CULTIVATION IN CLOSED PHOTOBIOREACTORS KARYAKIN D.O., KULABUKHOV V.YU.	3
СЕЛЕКЦИЯ IN VITRO КУЛЬТУРНЫХ СОРТОВ ГОРОХА И ТРИТИКАЛЕ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ АБДРАШЕВА К.К., ТАГИМАНОВА Д.С., ХАПИЛИНА О.Н., КУПЕШЕВ Ж.С.	3
СЕЛЕКЦИЯ ПРИРОДНЫХ И МУТАНТНЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ИЗОЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ АЛЛАЯРОВ Р.К., КАМЗОЛОВА С.В., ЛУНИНА Ю.Н., МОРГУНОВ И.Г.	4
КОЛЛАГЕН РЫБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СВОЙСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЕ В КОСМЕТОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ АНТИПОВА Л.В., БОЛГОВА С.Б.	5
СЛОЖНОСТИ АМПЛИФИКАЦИИ GC БОГАТЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, КОДИРУЮЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ АФОШИН А.С., КОЧЕТКОВ Ф.В., ШАДРИН А.М., ЛЕОНТЬЕВСКИЙ А.А.	5
ДОСТАВКА НАНОЧАСТИЦ В <i>CAENORHABDITIS ELEGANS</i> ПРИ ПОМОЩИ НАНОМОДИФИЦИРОВАННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ АХАТОВА Ф.С., ФАХРУЛЛИНА Г.И., ФАХРУЛЛИН Р.Ф.	6
ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОСИНЫ (<i>POPULUS TREMULA</i> L.) С ИЗМЕНЕННЫМ УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА 4-КУМАРАТ-КОА-ЛИГАЗЫ К ФИТОПАТОГЕННЫМ БАКТЕРИЯМ БАРИНОВА Е.Д., ВИНОГРАДОВА С.В., КАМИОНСКАЯ А.М., КОВАЛИЦКАЯ Ю.А., ШЕСТИБРАТОВ К.А.	7
БИОДЕГРАДАЦИЯ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ И АРОМАТИЧЕСКИХ НИТРОСОЕДИНЕНИЙ В СТОЧНЫХ ВОДАХ БОБРОВ Е.С., ГОРШИНА Е.С., НЕМАНОВА Е.О., РУСИНОВА Т.В., СТЕХНОВСКАЯ Л.Д., БИРЮКОВ В.В., ВАТУТИН Н.М., ЕМЕЛЬЯНОВ И.А.	8
ЛАЗЕРНЫЙ ДОПЛЕРОВСКИЙ АНЕМОМЕТР ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ СКОРОСТИ КРОВОТОКА IN VIVO БОРОЗДОВА М.А., ФЕДОСОВ И.В., ТУЧИН В.В.	8
ПЕПТИД, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ УКРОПА ПАХУЧЕГО <i>ANETHUM GRAVEOLENS</i> L., КАК СТИМУЛЯТОР РОСТА РАСТЕНИЙ БУРДИНА А.В., КУЛИКОВА О.Г., ИЛЬИНА А.П., ЯМСКОВ И.А., ЯМСКОВА В.П.	9
КОНСОРЦИУМ МЕТАНОБРАЗУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОГАЗА БЫТЯК Д.С., ГУЛЯ Н.И., ИГНАТОВА А.М., КИДАНОВА Е.В.	10
АНАЛИЗ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КЛОНОВ ОСИНЫ С РЕКОМБИНАНТНЫМ ГЕНОМ КСИЛОГЛЮКАНАЗЫ SP-XEG ВИДЯГИНА Е.О., УЛЬКО Д.О., КОВАЛИЦКАЯ Ю.А., ШЕСТИБРАТОВ К.А.	11
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>ESCHERICHIA COLI</i> BL21 С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ БЕЗМЕТИОНИНОВОГО ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА – 2 В ВИНОГРАДОВА А.Ф., ДЕМЬЯНОВА Е.В., ШАЛАЕВА О.Н., ГОРБУНОВА И.Н., ПЕТРОВА В.Н., ИЩЕНКО А.М. ...	11
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ <i>CUPRIAVIDUS EUTROPHUS</i> B10646 ВИНОГРАДОВА О.Н.	12

СОДЕРЖАНИЕ

ОЦЕНКА БИОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА И АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ АКТИНОМИЦЕТАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ЛИЧИНОК БАЙКАЛЬСКИХ РУЧЕЙНИКОВ ВОЙЦЕХОВСКАЯ И.В., ПРОТАСОВ Е.С., АКСЁНОВ-ГРИБАНОВ Д.В.	13
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ «ВСТЫК» ДЛЯ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ ФРАГМЕНТИРОВАННОЙ ДНК ГАЛИМОВА А.А., САХАБУТДИНОВА А.Р., ГАРАФУТДИНОВ Р.Р.	13
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИММУНОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСА ЯЩУРА НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ГУСЕВА К.А., РУДЕНКО Н.В., ШЕПЕЛЯКОВСКАЯ А.О., КАРАТОВСКАЯ А.П., БРОВКО Ф.А.	14
НАНОАНТИТЕЛА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ НОВЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНАЛИЗА БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ГОРЯЙНОВА О.С., ИВАНОВА Т.И., ТИЛЛИБ С.В.	15
КОНСТРУИРОВАНИЕ ШТАММОВ ПРОДУЦЕНТОВ МЕТИОНИН-Г-ЛИАЗ ИЗ <i>CITROBACTERFREUNDII</i> , <i>CLOSTRIDIUMTETANI</i> И <i>CLOSTRIDIUMSPOROGENES</i> ДЁГТЕВ Д.И., ГНУЧИХ Е.Ю., МАНУХОВ И.В.	15
РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ ЛАТЕКСА ДЛЯ БЫСТРОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО НЕКРОЗА ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ ТКАНИ ЛОСОСЕВЫХ (IHNV) ДОРОНИН М.И., ПЫЛЬНОВ В.А., БРОВКО Ф.А.	16
ВЛИЯНИЯ БИООРГАНИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО НА АКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ЕВДОКИМОВА Е.В., НОВОСЕЛОВА А.А.	17
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТЕРИЛИЗУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА ЛИЗОФОРМИН 3000 ЕФИМОВА Е.Г.	17
МАГНИТОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИЗМЕРЕНИЕ СТЕПЕНИ ОКСИГЕНАЦИИ И СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ЖОЛУДЬ А.М., КАШЕВСКИЙ С.Б.	18
ЛАЗЕРНЫЙ «ПИНЦЕТ» – МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ УПРУГИХ СВОЙСТВ БИООБЪЕКТОВ ЗАЛЕССКИЙ А.Д. ОСЫЧЕНКО А.А., НАДТОЧЕНКО В.А.	19
СОЗДАНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ <i>BRASSICA NAPUS</i> – ДОНОРОВ УСТОЙЧИВОСТИ К <i>TURNIP MOSAIC VIRUS</i> ЗУБАРЕВА И.А., ВИНОГРАДОВА С.В., ИГНАТОВ А.Н.	19
ПОЛУЧЕНИЕ АНТИТЕЛ К РЕКОМБИНАНТНОМУ ДОМЕНУ ТЕЛОМЕР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА TRF2 ИЛЬИЧЕВА Н.В., ВОРОНИН А.П.	20
РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РИККЕТСИОЗОВ В ПЦР С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ КАРТАШОВ М.Ю., МИКРЮКОВА Т.П., ТЕРНОВОЙ В.А.	21
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ АММОНИЙНОГО АЗОТА КЕЛЬНИК Д.И., ПЕТРОВА Г.М., ГЛУШЕНЬ Е.М., САМСОНОВА А.С.	21
ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ КИРСАНОВА П.О., НАДЕЖДИН С.В., ЧУЕВ В.В.	22
ПРОДУЦЕНТ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ IX – ЧАСТНОЕ РЕШЕНИЕ НА ОСНОВЕ ПЛАТФОРМЫ P1.1/P1.2. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ КОНСТРУКЦИИ, УДЕЛЬНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И АКТИВНОСТЬ ЦЕЛЕВОГО РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА КОВНИР С.В., ОРЛОВА Н.А., ШАХПАРОНОВ М.И., ВОРОБЬЕВ И.И.	23

СОДЕРЖАНИЕ

СТАБИЛИЗАЦИЯ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТАМИ ДЛЯ ОДНОЭТАПНОГО ПОКРЫТИЯ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ КОННОВА С.А., ДАНИЛУШКИНА А.А., ФАХРУЛЛИН Р.Ф.	24
ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ ПОЧВ КОНОВАЛОВА Е.А., ЛАЗЫКИН А.Г., ДАРМОВ И.В.	24
РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭКТОДОМЕН M2 БЕЛКА ВИРУСА ГРИППА И ЭПИТОПЫ ГЕМАГГЛЮТИНИНА, ПРИСОЕДИНЕННЫЕ К TLR5 ЛИГАНДУ ФЛАГЕЛЛИНУ, КАК ОСНОВА НОВЫХ ВАКЦИН КОТЛЯРОВ Р.Ю., БЛОХИНА Е.А., РАВИН Н.В.	25
ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЦИРКОВИРУСА СВИНЕЙ КРАВЧЕНКО Л.М., КУДИН К.В., ГОВОРОВСКИЙ В.В., ПРОКУЛЕВИЧ В.А.	26
ИННОВАЦИОННОЕ СРЕДСТВО ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА КУЗНЕЦОВА А.Е.	26
ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ: ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА), ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА)-СО-ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ КУЗНЕЦОВА Е.С., АКУЛИНА Е.А., ЖАРКОВА И.И., БОНАРЦЕВ А.П.	27
ВВЕДЕНИЕ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ В КУЛЬТУРУ IN VITRO КУПЕШЕВ Ж.С., РАЙЗЕР О.Б., ТАГИМАНОВА Д.С., АБДРАШЕВА К.К., ДАНИЛОВА А.Н., ХАПИЛИНА О.Н.	28
КРИОКОНСЕРВАЦИЯ БИОПАТОВ КОЖИ ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ФИБРОБЛАСТОВ МЕЩЕРЯКОВА Н.В.	29
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ LR35, LR47, SR32, SR39 К БУРОЙ И СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНАМ В ОБРАЗЦАХ <i>AEGILOPS SPELTOIDES</i> , СИНТЕТИЧЕСКОЙ ФОРМЕ АВРОДЕС И ЛИНИЯХ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ИХ ОСНОВЕ МИКОВ Д.С., ДАВОЯН Э.Р., ДАВОЯН Р.О., ЗУБАНОВА Ю.С., ЖАРЧЕНКО Н.П.	29
ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ PH НА БИОСИНТЕЗ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ <i>MORTIERELLA ALPINA</i> NRRL-A-10995 НА ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩЕЙ СРЕДЕ МИРОНОВ А.А., МОРГУНОВ И.Г., ДЕДЮХИНА Э.Г.	30
ПРОХОЖДЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАНОАЭРОЗОЛЕЙ ЧЕРЕЗ НАНОВОЛОКНИСТЫЕ СРЕДЫ МИХЕЕВ А.Ю., КАНЕВ И.Л., МОРОЗОВ В.Н.	31
ПРИМЕНЕНИЕ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА ДЛЯ АНАЛИЗА РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ МОНАХОВА В.С., СЕРГЕЕВА Д.С., ПЕТРОВ А.В.	31
МИКРОБНЫЙ ПРЕПАРАТ «ТЭАМИН» ДЛЯ ОЧИСТКИ РАСТВОРОВ ОТ ТРЕТИЧНЫХ АМИНОВ НАГОРНЫЙ Р.К., САМСОНОВА А.С.	32
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ СОСТАВЛЯЮЩИХ В КУЛЬТИВИРОВАННЫХ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ КАРТОФЕЛЯ НОВИКОВА И.Н., ДРЁМИН В.В., РЫЛКОВА А.С., СВЕТКИНА П.В., СТЕЛЬМАЩУК О.А., ДУНАЕВ А.В., КУЗНЕЦОВА Е.А.	33
ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ БИОСТИМУЛЯТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ПИВНЫХ СЕМЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ НОВОСЕЛОВА А.А., ЕВДОКИМОВА Е.В.	33
СОЗДАНИЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ ЛИНИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ОРЛОВА Н.А., КОВНИР С.В., ХОДАК Ю.А., ВОРОБЬЕВ И.И.	34

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЛУЧЕНИЕ ГИБРИДНЫХ РЕКОМБИНАТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ ОВЕЧЬЕГО А2-ИНТЕРФЕРОНА В КЛЕТКАХ <i>E. COLI</i> ОСТРИКОВА К.В., ПОТАПОВИЧ М.И., ПРОКУЛЕВИЧ В.А.	35
<i>CHLORELLA VULGARIS</i> – ВОЗМОЖНЫЙ ПРОДУЦЕНТ БИОТОПЛИВА III ПОКОЛЕНИЯ ПЕРЕВЯЗКА Д.С., ХУДОКОРМОВ А.А., ВОЛЧЕНКО Н.Н., САМКОВ А.А., КАРАСЁВА Э.В.	36
ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ЛИПИД-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ШТАММОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ, КАК СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТОПЛИВА, ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СТОЧНЫХ ВОДАХ ПИВОВАРЕННЫХ ПРОИЗВОДСТВ ПИЛИГАЕВ А.В., САМОЙЛОВА Ю.В., СОРОКИНА К.Н.	36
УСТОЙЧИВОСТЬ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА <i>RHODOSPIRILLUM</i> К ВОЗДЕЙСТВИЮ ГИДРОФИЛЬНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ ПИСЦОВА О.Н., КОРШУНОВА И.О., КУЮКИНА М.С., ИВШИНА И.Б.	37
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АЛКАЛОФИЛЬНЫХ И АЛКАЛОТОЛЕРАНТНЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ПОКРОВСКАЯ Ю.С., КУДРЯВЦЕВА О.А., БИЛАНЕНКО Е.Н., ДУНАЕВСКИЙ Я.Е., КУРАКОВ А.В.	38
ПРИМЕНЕНИЕ ХЕЛАТА КРЕМНИЯ И СИЛИКАТА НАТРИЯ В ТЕХНОЛОГИИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО КАРТОФЕЛЯ ПОЛЯКОВА М.Н., ХАБАРОВА Л.Н., ПАСТУХОВ С.А.	39
ВЛИЯНИЕ КРАХМАЛА НА БИОСИНТЕЗ ТАКРОЛИМУСА (FK-506) ШТАММОМ <i>STREPTOMYCES TSUKUBAENSIS</i> ВКМ АС-2618Д ПОШЕХОНЦЕВА В.Ю., ГУЛЕВСКАЯ С.А., СУХОДОЛЬСКАЯ Г.В., ФОКИНА В.В.	39
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО РЕАГЕНТА ИЗ ГРУППЫ ХИНАЗОЛИЛ-ФОРМАЗАНОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛОКАЛИЗАЦИИ МЕДИ И ЦИНКА В КЛЕТКАХ КАЛЛУСОВ КАРТОФЕЛЯ РЫЛКОВА А.С., СВЕТКИНА П.В., КУЗНЕЦОВА Е.А.	40
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ КОЛЛАГЕНОВЫХ БАРЬЕРНЫХ МЕМБРАН НА ОСНОВЕ ДОНОРСКИХ КСЕНОГЕННЫХ МАТРИЦ РЯБОВ А.Ю., ФАДЕЕВА И.С., ВЕЖНИНА Н.О., ГОРБАЧЕВ Д.П., ФАДЕЕВ Р.С., ФЕСЕНКО Н.И., ЛЕКИШВИЛИ М.В., АКАТОВ В.С.	41
РАЗРАБОТКА БИОКАТАЛИЗАТОРА ДЛЯ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ САМОЙЛОВА Ю.В., ПИЛИГАЕВ А.В., СОРОКИНА К.Н.	42
ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНЫХ ФОРМ ГЛЮКОАМИЛАЗЫ ГРИБА <i>ASPERGILLUS AWAMORY X100</i> МЕТОДАМИ НАПРАВЛЕННОЙ ЭВОЛЮЦИИ СОБОЛЕВА Е.В., ШМИДТ А.Е., СЕРГЕЕВ В.Р., ГЛАЗУНОВ Е.А., СУРЖИК М.А.	42
ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО В СОСТАВЕ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ В <i>E. COLI</i> СОВГИР Н.В., НАГОРНАЯ А.А., ЯНУШКЕВИЧ Д.М., ПРОКУЛЕВИЧ В.А.	43
ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АЗОТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У ДРОЖЖЕЙ <i>PICHLIA PASTORIS</i> СОЛОВЬЕВ Г.А., РУМЯНЦЕВ А.М., САМБУК Е.В.	44
РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА КОНТРАСТИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ СУББОТ А.М., ФЁДОРОВ А.А., ГРИБОЕДОВА И.Г.	45
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ГЕНА ГКФС В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ РЯСКИ МАЛОЙ (<i>LEMNA MINOR L.</i>) ТАРАСЕНКО И.В., ФИРСОВ А.П., АЛИКИНА О.В., МИТЮШКИНА Т.Ю., ДОЛГОВ С.В.	45

СОДЕРЖАНИЕ

РАСТЕНИЯ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> С ИНТЕГРИРОВАННЫМ ГЕНОМ МИКРОБНОЙ ФИТАЗЫ ТРОШАГИНА Д.С.	46
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ОСИНЫ ТУГБАЕВА А.С., КОВАЛИКАЯ Ю.А., ШЕСТИБРАТОВ К.А.	47
СОЗДАНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ НАНОАНТИТЕЛ ПРОТИВ МИКОПЛАЗМЕННЫХ ИНФЕКЦИЙ УСУПЖАНОВА Д.Ю., ЩЕБЛЯКОВ Д.В., БУРМИСТРОВА Д.А.	47
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЬНОГО ОБРАЗЦА, ВХОДЯЩЕГО В СОСТАВ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ГЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ ФАДЕЕВА А.В., МАТВЕЕВА Ж.В., СТЕПАНОВ А.В., МАЙОРОВ Н.В.	48
РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛУЧЕНИЯ НЕКАЛЬЦИФИЦИРУЮЩИХСЯ БИОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ НУЖД СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ ФАДЕЕВА И.С., ГОРБАЧЕВ Д.П., САЧКОВ А.С., ФАДЕЕВ Р.С., ФЕСЕНКО Н.И., БРИТИКОВ Д.В., МУРАТОВ Р.М., АКАТОВ В.С.	49
ПОЛУЧЕНИЕ НОВОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ФИТАЗНОГО ГЕНА <i>PANTOEA</i> <i>AGGLOMERANS</i> ХАБИПОВА Н., ЗАЙНУЛЛИНА А., ЧАСТУХИНА И.Б., ВАЛЕЕВА Л.Р.	50
ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЛАЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ ФТОРХИНОЛОНОВОГО РЯДА МЕТОДАМИ <i>IN VITRO</i> ХОРОЛЬСКАЯ Ю.И., АЛЕКСАНДРОВА О.И., ОКОЛОВ И.Н., ТАХТАЕВ Ю.В., ХИНТУБА Т.С., БЛИНОВА М.И.	50
ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ СУСПЕНЗИОННЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК СНО – ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ХРАПЫЛИНА А.С., ДЕМЬЯНОВА Е.В., ПЕТРОВ А.В., ВАХИТОВ Т.Я.	51
РЕГИСТРАЦИЯ ТРАСПОРТА МОЛЕКУЛ ДНК В КАНАЛЕ ЛИПИДНОЙ НАНОТРУБКИ В УСЛОВИЯХ МАЛОЙ ИОННОЙ СИЛЫ ЧЕКАШКИНА К.В., КУЗЬМИН П.И., ПРОТОПОПОВА Г.Е., УШАКОВ А.М., ПОЗМОГОВА Г.Е., КЛИНОВ Д.В., БАШКИРОВ П.В.	52
ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ЖИРОВЫХ ВЕЩЕСТВ ЧИРИКОВА М.С., ШАКУН Т.П., ПЕТРОВА Г.М., САМСОНОВА А.С.	53
СЕЛЕКЦИЯ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ШАКИРОВА М.М., МИРОНОВ А.А., МОРГУНОВ И.Г.	53
КОНСТРУИРОВАНИЕ НЕФЕРМЕНТНЫХ ДИАГНОСТИКУМОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИРАБИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК В ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗЕ ШАРАПОВА Н.А., АБРАМОВА Е.Г., КИРЕЕВ М.Н.	54
НОВЫЙ СПОСОБ БЫСТРОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ЗАРЯЖЕННЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ ШЛЯПНИКОВ Ю.М., КИДД Д., МОРОЗОВА Т.Я., ШЛЯПНИКОВА Е.А., МОРОЗОВ В.Н.	55
ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ЛАТЕКСОВ ПОЛИСТИРОЛА В ВОДНО-СПИРТОВЫХ СРЕДАХ ШПИЛИНА И.Д., ШИРОКОВА И.Ю., БЕЛЯЕВ А.П., КУЧУК В.И.	55
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВ И ВНУТРИВИДОВЫХ ТАКСОНОВ <i>ROSA</i> (<i>ROSACEAE</i>) И <i>EREMOTHECIUM</i> (<i>EREMOTHECIACEAE</i>), СИНТЕЗИРУЮЩИХ ЭФИРНОЕ МАСЛО ШПИЧКА А.И., СЕМЕНОВА Е.Ф., ПРЕСНЯКОВА Е.В., КНЯЗЬКОВА А.А.	56
ВЫДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ ЭНДОСПЕРМОГЕНЕЗА И СОЗДАНИЕ АНТИСМЫСЛОВЫХ КОНСТРУКЦИЙ У РАСТЕНИЙ <i>A. THALIANA</i> ЯСЫБАЕВА Г.Р., РОЖНОВА Н.А., ГЕРАЩЕНКОВ Г.А., ЧЕМЕРИС А.В.	56

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ «БИОФАРМАЦЕВТИКА»

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА АНТИОНКОРАН-М В СОЧЕТАНИИ С ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИЕЙ АЛЕКСЕЕНКО И.В., ЯКУБОВСКАЯ Р.И., НЕМЦОВА Е.Р., БЕЗБОРОДОВА О.А., СВЕРДЛОВ Е.Д.	58
АКТИВНОСТЬ ДЕСТАБИЛАЗЫ-ЛИЗОЦИМА В ПРОТЕОЛИПОСОМАХ РАЗЛИЧНОГО ЛИПИДНОГО СОСТАВА АНТИПОВА Н.В., ПЕТРОВА Т.Д., ОНИЩЕНКО Н.Р., ЗАВАЛОВА Л.Л.	58
ТЕСТИРОВАНИЕ СИНЕРГИЗМА МЕЖДУ АНТИБИОТИКАМИ И ГАЛОГЕНИРОВАННЫМИ ФУРАНОНАМИ И 2-ПИРРОЛИНОНАМИ АХМЕДУЛЛИНА Р.А., БАБЫНИН Э.В.	59
СТРЕССОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЭКДИЗОНА АХМЕТКИРЕЕВА Т.Т., НИКОНОРОВ Ю.М.	59
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНАЯ ДНК ИЗ МОЛОК РЫБ БАГАНОВ М.А., ЮРЬЕВ Д.А.	60
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОК ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КАНДЕСАРТАНА, ЛОЗАРТАНА И РЕСВЕРАТРОЛА <i>IN VITRO</i> БЕЛЯЕВА А.В., АФОНИН В.Ю., АНИСОВИЧ М.В.	61
ИЗУЧЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ ФРАКЦИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ БОГДАНОВ В.В., БЕРЕЗИН Б.Б., ИЛЬИНА А.П., ЯМСКОВА В.П., ЯМСКОВ И.А.	61
ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ГИБРИДНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ БЕЛКОВ VP6 И VP8 РОТАВИРУСА ЧЕЛОВЕКА ГРУППЫ А БОГОМОЛОВА Е.Г., ДУХОВЛИНОВ И.В., ФЕДОРОВА Е.А., СИМБИРЦЕВ А.С.	62
ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСА И ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКСПРЕССИИ КЛЕТКАМИ EGFP, НА СЕКРЕЦИЮ ЦИТОКИНОВ <i>IN VITRO</i> ГАТИНА Д.З., ЛАЙКОВ А.В., ГАРАНИНА Е.Е., РОМАНОВА Ю.Д., САЛАФУТДИНОВ И.И.	63
РАЗРАБОТКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ИСКУССТВЕННЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА ГОМЗИКОВА М.О., РИЗВАНОВ А.А.	63
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА TB10.4 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> В КЛЕТКАХ <i>ESHERICHIA COLI</i> ДОБРОВОЛЬСКАЯ О.А., ФЕДОРОВА Е.А., ЧЕРНЯЕВА Е.Н., ДУХОВЛИНОВ И.В., СИМБИРЦЕВ А.С.	64
ПРОЛОНГИРОВАННАЯ ФОРМА ДОЦЕТАКСЕЛА КАК НОВЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖУНИНА О.А., ГОДОВАННЫЙ А.В., СЕВЕРИН Е.С.	65
ВЛИЯНИЕ РНКАЗЫ <i>VACILLUS PUMILUS</i> НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК НИЗШИХ И ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ ИГТИСАМОВА Г.Р., КАЛАЧЕВА Н.В., ЧЕРЕПНЕВ Г.В.	66
ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АРЕНИЦИЕ-2 И КОНВЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИБИОТИКОВ КАЛАШНИКОВ А.А., БОЛОСОВ И.А., ПАНТЕЛЕЕВ П.В., ОВЧИННИКОВА Т.В.	66
ПОЛУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В НАНОАЭРОЗОЛЬНОЙ ФОРМЕ КАНЕВ И.Л., ШЛЯПНИКОВА Е.А., МОРОЗОВ В.Н.	67
ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО РЯДА «29D» - АНАЛОГА КСИМЕДОНА ВЫШТАКАЛЮК А.Б., КИТАЕВА К.В., ПОРФИРЬЕВ А.Г.	67

СОДЕРЖАНИЕ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕГУЛЯТОРНОГО ПЕПТИДА СЕЛАНК НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЁННЫХ В ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГАМКЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ КОЛОМИН Т.А., ВОЛКОВА А.П., ШАДРИНА М.И., ЛИМБОРСКАЯ С.А., МЯСОЕДОВ Н.Ф., СЛОМИНСКИЙ П.А.	68
ДОСТАВКА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ КОЛОСКОВА О.О., БУДАНОВА У.А., СЕБЯКИН Ю.Л.	69
УЛУЧШЕННАЯ ВАКЦИНА ОТ ГЕМОФИЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ КРИВЫХ П.О., ВЛАСОВ П.К.	69
РЕКОМБИНАНТНЫЕ ТАНДЕМНЫЕ ГИСТОНЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ДНК В КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ КУЗЬМИЧ А.И., ВВЕДЕНСКИЙ А.В., ЗИНОВЬЕВА М.В.	70
ЭФФЕКТЫ КАРОТИНОИДОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ <i>CAENORHABDITIS ELEGANS</i> ЛАШМАНОВА Е.А.	71
ДОСТАВКА В ОБЛАСТЬ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА, ТРАНДУЦИРОВАННЫХ РЕКОМБИНАНТНЫМИ АДЕНОВИРУСАМИ С КЛОНИРОВАННЫМИ ГЕНАМИ VEGF И GDNF УЛУЧШАЕТ СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МУХАМЕДШИНА Я.О., САНАТОВА Э.Р., ГАЛИЕВА Л.Р., ГАРАНИНА Е.Е.	72
РЕДОКС-ЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЦИТОСТАТИКОВ ПО СХЕМЕ CAP НАСЫРОВА Е.Ю., ДОЛГОВА Д.Р., АБАКУМОВА Т.В., ГЕНИНГ С.О., МИХЕЕНКО А.А.	72
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПРИ ОТРАВЛЕНИЕ ФОС НА <i>IN VIVO</i> МОДЕЛЯХ ПАЛИКОВ В.А., ПАЛИКОВА Ю.А., СМИРНОВ И.В., ДЬЯЧЕНКО И.А., ЖАРМУХАМЕДОВА Т.Ю., МУРАШЕВ А.Н.	73
ОСОБЕННОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ПОЛИПЕПТИДА RT-1 В ИССЛЕДОВАНИИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПАЛИКОВА Ю.А., ПАЛИКОВ В.А., АНДРЕЕВ Я.А., ДЬЯЧЕНКО И.А., ЖАРМУХАМЕДОВА Т.Ю., МУРАШЕВ А.Н.	74
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ CPG-ОДН В КАЧЕСТВЕ АДЪЮВАНТА В СОСТАВЕ ПРОТОТИПА ВАКЦИНЫ СИБИРЕЯЗВЕННОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПОПОВА П.Ю., СЕМАКОВА А.П., СТЕПАНОВ А.В.	75
РАЗРАБОТКА ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ БОРЬБЫ С ВИРУСНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КРС ПОТАПОВИЧ М.И., ПРОКУЛЕВИЧ В.А.	75
ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НАСЕКОМЫХ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПОТОЛИЦЫНА Е.А., ТУЛИН Д.В.	76
РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ РОЩИН А.О., КУЛИКОВА О.Г., МАЛЬЦЕВ Д.И., ИЛЬИНА А.П., ЯМСКОВ И.А., ЯМСКОВА В.П.	77
ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ (LQGV, AQGV, VLRALP) НА ПРОДУЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА-17 (IL-17A) Т-ХЕЛПЕРАМИ РЯБОВА Ж.В., ЗАМОРИНА С.А.	78
ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА И СОПОЛИМЕРА 2,5-ДИГИДРОКСИБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ С ЖЕЛАТИНОМ НА МИГРАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК <i>IN VITRO</i> СНИГИРЕВА А.В., ВРУБЛЕВСКАЯ В.В., ЛИСОВ А.В., МОРЕНКОВ О.С., ЛЕОНТЬЕВСКИЙ А.А.	78

СОДЕРЖАНИЕ

АГРЕГАТИВНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЛАТЕКСОВ ПОЛИМЕТИЛМЕТАКРИЛАТА В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ РАСТВОРЕ ТЕРЕЩЕНКО М.С., ШИРОКОВА И.Ю., КУЧУК В.И., БЕЛЯЕВ А.П., ШЕВЧЕНКО Н.Н.	79
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ И ИХ КОМПОНЕНТЫ КАК ИНГИБИТОРЫ КВОРУМ СЕНСИНГА У БАКТЕРИЙ ТОЛМАЧЕВА А.А., ДЕРЯБИН Д.Г.	80
СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ НИТРОБЕНЗОКСАДИАЗОЛОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА (II): В ОПЫТАХ НА LUX-БИОСЕНСОРАХ <i>E. COLI</i> ЧИСТЯКОВ В.А., СЕМЕНЮК Ю.П., МОРОЗОВ П.Г., ПРАЗДНОВА Е.В., ЧМЫХАЛО В.К., ХАРЧЕНКО Е.Ю., КЛЕЦКИЙ М.Е., БОРОДКИН Г.С., ЛИСОВИН А.В., БУРОВ О.Н., КУРБАТОВ С.В.	81
СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА» INTEGRATION OF MITOCHONDRIAL DNA FRAGMENTS INTO THE NUCLEAR GENOME: A NEW RADIATION- INDUCED MUTATION ABDULLAEV S.A.	82
HYDROXYAPATITE NANOSTRUCTURES WITH SURFACE MODIFIED POLAR PROPERTIES BYSTROVA A.V., DEKHTYAR Y.D., COUTINHO J., BYSTROV V.S.	82
URINARY CELL-FREE DNA AS A NEW POTENTIAL BIOMARKER OF THE ORGANISM RESPONSE TO IONIZING RADIATION EXPOSURE MINKABIROVA G.M., ABDULLAEV S.A.	83
УСЛОВИЯ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ВЛИЯЮТ НА АМИЛОИДОГЕННЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ АРХЕЙ АНТОНЕЦ К.С., ДРОЗДОВА П.Б., НИЖНИКОВ А.А.	83
МЕЖДОМЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СТРУКТУРЕ ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ <i>SALMONELLA</i> <i>TYPHIMURIUM</i> БАЛАЕВ В.В., ЛАШКОВ А.А., ГАБДУЛХАКОВ А.Г., МИХАЙЛОВ А.М.	84
ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО Г-ОБЛУЧЕНИЯ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ДОЗ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И СКОРОСТЬ РОСТА РЯСКИ МАЛОЙ БЕРЕСТИНА А.В., РАССКАЗОВА М.М., ГНУСИНА Д.А.	84
ТЕОРЕТИЧЕСКИ РАССЧИТАННАЯ ПРОСТРАНСТВЕННАЯ МОДЕЛЬ МИНИ-ФЕРМЕНТА, МОДЕЛИРУЮЩЕГО КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР АЛЛЕНОКСИДСИНТАЗЫ LEAOS3 (CYP74C3) ТОМАТА БЕССОЛИЦЫНА Е.К., ЕРМАКОВА Е.А., ТОПОРКОВА Я.Ю.	85
ПОИСК НОВЫХ АМОЕВОЗОА-СПЕЦИФИЧНЫХ ГЕНОВ С ЦЕЛЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ДНК-БАРКОДОВ БОНДАРЕНКО Н.И., СМИРНОВ А.В.	86
ЭФФЕКТ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО ЗАМЕДЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ ВЕЛЕГЖАНИНОВ И.О., ЕРМАКОВА А.В., РАСКОША О.В., КЛОКОВ Д.Ю.	87
МОДЕЛИРОВАНИЕ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ ПОЛЯРИЗАЦИИ В ТОНКИХ ПЛЕНКАХ НА НАНОУРОВНЕ ГЕВОРКЯН В.Е., ПАРАМОНОВА Е.В., БЫСТРОВ В.С.	87
ХАОТИЧЕСКОЕ ИЗМЕНЕНИЕ КАРДИОИНТЕРВАЛ ШКОЛЬНИКОВ ПРИ СМЕТЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОЯСОВ ГОРБУНОВ Д.В., ЭЛЬМАН К.В., ПРАСОЛОВА А.А., ТРУСОВ М.В.	88
ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ АЛЬБУМИНА И ФИБРИНОГЕНА ГОРОБЕЦ М.Г., СУЛЬТИМОВА Н.Б., БЫЧКОВА А.В.	89
АСИНХРОННАЯ СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА И ВЕЗИКУЛЯРНЫЕ ПУЛЫ ГРИГОРЬЕВ П.Н., ЗЕФИРОВ А.Л.	89

СОДЕРЖАНИЕ

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОДНОРОДНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЛИНИЙ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГУБИНА Н.Е., ПЯТКОВ М.И.	90
СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ФЛАВИН-ЗАВИСИМЫХ ОКСИДОРЕДУКТАЗ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ И <i>E. COLI</i> - ВОЗМОЖНОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ КОМПЛЕКСА С ЛЮЦИФЕРАЗОЙ ДЕЕВА А.А., ТЕМЛЯКОВА Е.А., НЕМЦЕВА Е.В., КРАТАСЮК В.А.	90
ПАЛЬМИТИНОВАЯ КИСЛОТА И ПРОДУКТЫ ЕЁ Ω -ОКИСЛЕНИЯ КАК ИНДУКТОРЫ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПЕРМЕАБИЛИЗАЦИИ МИТОХОНДРИЙ И ЛИПОСОМ ДУБИНИН М.В., ХОРОШАВИНА Е.И., ВЕДЕРНИКОВ А.А., БЕЛОСЛУДЦЕВ К.Н., САМАРЦЕВ В.Н.	91
СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДОКСОРУБИЦИНА В КОМПЛЕКСЕ С ДНК КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА В РАСТВОРАХ С РАЗЛИЧНОЙ ИОННОЙ СИЛОЙ ДУХАНИНА Е.В., ЛЫСЕНКО Ю.А., АРТЮХОВ В.Г.	92
МЕХАНИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДИГИДРОУРИДИНСИНТАЗ С ТРАНСПОРТНЫМИ РНК ЗАТЫЛКИН Ф.А., КАСАЦКИЙ П.С., КОНЕВЕГА А.Л.	93
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЯХ ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ КАНЕВА А.В., БЕЛЫХ Е.С., МАЙСТРЕНКО Т.А., ШАДРИН Д.М., ПЫЛИНА Я.И., ВЕЛЕГЖАНИНОВ И.О.	93
ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ СЕКВЕНИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ КАТАЕВ Я.И., КИРЯКОВ В.С.	94
ХАРАКТЕРИСТИКА И ГЕНОМНАЯ АННОТАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ SSR ЛОКУСОВ У ТОНКОВОЛОКНИСТОГО ХЛОПЧАТНИКА (<i>G. BARBADENSE</i> L.) КЛЮЕВА М.В., ЗАКИРОВА Д.В., ТУРАКУЛОВ Н.З., АБДУЛЛАЕВ А.А., САЛАХУТДИНОВ И.Б., АБДУКАРИМОВ А.А.	94
ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ИНФРОКРАСНОГО ДИАПАЗОНА НА ПОЛ В ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС КОВАЛЕНКО А.А., ОВСЯННИКОВА Т.Н., ГУРИН О.В., ГЛАДКИХ А.И.	95
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТОЧНОСТИ ОЦЕНОК НУКЛЕОТИДНОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА КОВАЛЕНКОВА М.В.	96
ВЛИЯНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА БТШ70 НА ПРОДУКЦИЮ TNF- α КЛЕТКАМИ ТНР-1 КОЧЕТКОВА О.Ю., ЮРИНСКАЯ М.М., ШАБАРЧИНА Л.И., ВИНОКУРОВ М.Г.	96
СТРУКТУРНАЯ ОСНОВА СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ УРИДИНФОСФОРИЛАЗЫ <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> К СУБСТРАТАМ ОБРАТНОЙ РЕАКЦИИ ЛАШКОВ А.А., ПРОКОФЬЕВ И.И., ГАБДУЛХАКОВ А.Г., МИХАЙЛОВ А.М.	97
ИССЛЕДОВАНИЕ МОРОФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ЛЕОНТЬЕВ Д.В., ИЩЕНКО А.В., ЕМЕЛЬЯНОВ В.В., БУЛАВИНЦЕВА Т.С., ГЕТТЕ И.Ф., ДАНИЛОВА И.Г.	98
КЛИЕНТ-СЕРВЕРНАЯ АРХИТЕКТУРА ПРОГРАММЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ ЛИХАЧЕВ И.В., БАЛАБАЕВ Н.К.	98
ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ НЕПРЕРЫВНЫХ И МОДУЛИРОВАННЫХ АКУСТИЧЕСКИХ ВОЛН НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ЛЫСЕНКО Ю.Н., ПЕРОВ Д.В., ПАШОВКИН Т.Н., ГАПЕЕВ А.Б.	99

СОДЕРЖАНИЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА СОСТОЯНИЕ НАТРИЙ-КАЛЬЦИЕВОЙ ОБМЕННОЙ СИСТЕМЫ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА КРЫСЫ МАСЛОВ О.В., ВИНОКУРОВ А.А., БОГАЧЕВА Е.В.	100
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА НЕФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВ ОРХИДНЫХ И ВЕРЕСКОВЫХ МАТВЕЕВА М.В., ЛОГАЧЕВА М.Д., ГУСЕВ О.А.	101
ИНГИБИТОР WASP БЕЛКОВ ВИСКОСТАТИН ПОДАВЛЯЕТ ТРАНСПОРТ Na^+ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ МЕЛЬНИЦКАЯ А.В., КРУТЕЦКАЯ З.И., БУТОВ С.Н., КРУТЕЦКАЯ Н.И.	101
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА МЕТАЛЛОПРОТЕАЗЫ В ГЕНОМАХ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ <i>MORGANELLA MORGANII</i> МИННУЛЛИНА Л.Ф., ЗАМАЛЮТДИНОВА Н.М., МАРДАНОВА А.М.	102
КОМПЛЕКСНАЯ СИСТЕМА ИНФОРМАЦИОННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПНЦ РАН МИТРОШИН И.А., ПЕТРОВ А.Б.	103
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МЕЖПОЛЯРНЫХ МИКРОТРУБОЧЕК ВЕРЕТЕНА ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК ДРОЗОФИЛЫ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА FRAP МУНЗАРОВА А.Ф.	104
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ФОСФОЛИПАЗ А2 4-БРОМФЕНАЦИЛБРОМИДА НА ЭФФЕКТ МОЛИКСАНА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ Ca^{2+} В МАКРОФАГАХ НАУМОВА А.А., МИЛЕНИНА Л.С., КРУТЕЦКАЯ З.И., БУТОВ С.Н., АНТОНОВ В.Г.	104
АРХИТЕКТУРА И ФУНКЦИОНАЛ ОБЛАЧНОГО РЕСУРСА MATHBRAIN ОПЛАЧКО Е.С., РЫКУНОВ С.Д., УСТИНИН М.Н.	105
РАДИАЦИОННАЯ ЗАЩИТА ПАЦИЕНТОВ ПРИ МЕДИЦИНСКОМ ОБЛУЧЕНИИ. СПОСОБ СНИЖЕНИЯ ЛУЧЕВОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ МСКТ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ ОСИПОВ М.В., ЛЕБЕДЕВ Н.И., ФОМИН Е.П.	106
ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИНОМИЦИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ С ПОТЕНЦИАЛЬНЫМИ ПЕРЕНОСЧИКАМИ ПАНТЮШЕНКО И.В., КОВАЛЕВ В.И., ВЕКШИН Н.Л.	107
ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В СПЕРМИЯХ БЕЛОРЫБИЦЫ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ КРИОЗАЩИТНЫХ РАСТВОРОВ ПЕРОВ Д.В., АНДРЕЕВ А.А., ЛЫСЕНКО Ю.Н., КРАСИЛЬНИКОВА А.А., ТИХОМИРОВ А.М., ГАПЕЕВ А.Б.	107
АТЛАС ПАРЦИАЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ОТДЕЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПОЛЯНИН А.Г., РЫКУНОВ С.Д., СЫЧЕВ В.В., УСТИНИН М.Н.	108
ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ «ГОРЯЧИХ ТОЧЕК» МУТАЦИЙ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА СВЯЗАННЫХ С ПРОТЯЖЕННЫМИ ПОВТОРЯЮЩИМИСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ ПЯТКОВ М.И., ПАНКРАТОВ А.Н.	109
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕОБРАЗОВАННОГО ПОЛУПРОВОДНИКОВЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ СВЕТА НА РАЗВИТИЕ ДОИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ МЫШИ IN VITRO РЕШЕТНИКОВ Д.А., ФАХРАНУРОВА Л.И., ЧЕРНОВ А.С.	109
АНАЛИЗ КОНФОРМАЦИОННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ СТРУКТУРНЫХ МОТИВОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ РУДНЕВ В.Р., ПАНКРАТОВ А.Н., КУЛИКОВА Л.И., ДЕДУС Ф.Ф., ТИХОНОВ Д.А., ЕФИМОВ А.В.	110
ТОЧНЫЙ ЧАСТОТНЫЙ АНАЛИЗ СИЛЬНО ЗАШУМЛЕННЫХ ЭНЦЕФАЛОГРАММ РЫКУНОВ С.Д., СЫЧЕВ В.В., УСТИНИН М.Н.	111

СОДЕРЖАНИЕ

ФОРМИРОВАНИЕ ДНК СОДЕРЖАЩИХ ФОСФОЛИПИДНЫХ ЛИПОСОМ РЫСЦОВ Г.К.	111
ОБНАРУЖЕНИЕ СУТОЧНОЙ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ОЦЕНКА ЕЕ ДИНАМИКИ У ПЛАНАРИЙ SCHMIDTEA MEDITERRANEA СКАВУЛЯК А.Н., ЕРМАКОВ А.М., КРЕЩЕНКО Н.Д.	112
ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, ПОДВЕРЖЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ ALCL3 IN VITRO СКОРОБОГАТОВА А.С., КОЗЛЕНКОВА О.А., ЛУКЪЯНЕНКО Л.М.	112
ФОТОХРОМНЫЕ СВЕРХБЫСТРЫЕ РЕАКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО И ЗРИТЕЛЬНОГО РОДОПСИНОВ СМИТИЕНКО О.А., ШЕЛАЕВ И.В., ГОСТЕВ Ф.Е., ФЕЛЬДМАН Т.Б., НЕКРАСОВА О.В., ДОЛГИХ Д.А., НАДТОЧЕНКО В.А., КИРПИЧНИКОВ М.П., ОСТРОВСКИЙ М.А.	113
НЕЛИНЕЙНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕХАНИЗМОВ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ ВАЗОДИЛАТАЦИИ СТЮХИНА Е.С., НЕГАНОВА А.Ю., ПОСТНОВ Д.Э.	114
ВЛИЯНИЕ ДВОЙНОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО СЛОЯ НА ТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАННЫХ НАНОТРУБОК УШАКОВ А.М., ГАЛИМЗЯНОВ Т.Р., КУЗЬМИН П.И., БАШКИРОВ П.В.	115
НОВЫЕ БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПАРАМЕТРОВ ПОРЯДКА В ПСИХОФИЗИОЛОГИИ ФИЛАТОВ М.А., КОЛОСОВА А.И., ВАЛИЕВА Е.В.	115
КИНЕТИКА ТЕПЛОВОЙ ДЕНАТУРАЦИИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ОККЛЮЗИИ СОННЫХ АРТЕРИЙ МОЗГА КРЫС ХИЗРИЕВА С.И., ДЖАФАРОВА А.М., ХАЛИЛОВ Р.А.	116
ИЗМЕНЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА И НЕКОТОРЫХ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКССУДАТА МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ РОСТА АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА, ПОДВЕРГНУТОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ШАБАНОВ Д.И., ЛЫСЕНКО Ю.А., АРТЮХОВ В.Г.	117
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТОКСИЧНОСТИ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ, СОЛЕЙ СЕРЕБРА(I) И МЕДИ(II) В ОТНОШЕНИИ ИНFUЗОРИЙ <i>PARAMESCIUM CAUDATUM</i> ШЕВЦОВА Ю.А., СВИРИДОВА И.А., ДЫЧКИНА Е.В.	118
ДИГИДРОКВЕРЦЕТИН УМЕНЬШАЕТ ЧАСТОТУ ОБРАЗОВАНИЯ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ПОЛИХРОМАТОФИЛЬНЫХ ЭРИТРОЦИТОВ С МИКРОЯДРАМИ И ПРОЯВЛЯЕТ РАДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ШЕЛКОВСКАЯ О.В., КАРП О.В., ИВАНОВ В.Е., ЧЕРНИКОВ А.В., ГУДКОВ С.В., БРУСКОВ В.И.	118
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ УГЛЕРОДА С ЭНЕРГИЕЙ 200 МЭВ/НУКЛОН НА МЫШЕЙ И ИХ ПОТОМКОВ В ДВУХ ГЕНЕРАЦИЯХ ШЕМЯКОВ А.Е., ЗАИЧКИНА С.И., СМИРНОВА Е.Н., РОЗАНОВА О.М., РОМАНЧЕНКО С.П., ДЮКИНА А.Р., СОРОКИНА С.С., ВАХРУШЕВА О.А.	119
МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ШИПУНОВА В.О., НИКИТИН М.П., НИКИТИН П.И., ДЕЕВ С.М.	120
ВИРТУАЛЬНЫЙ ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ А,Ω-ГЕКСАДЕКАНДИОЛОВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТОЧНОМ АЛЬБУМИНЕ ЩЕРБАКОВ К.А., ДУБЕНИН М.В., САМАРЦЕВ В.Н.	121

СОДЕРЖАНИЕ

НЕЙРОСЕТЕВОЙ МЕТОД В РЕШЕНИИ ЗАДАЧИ БИНАРНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ПАРАМЕТРОВ КАРДИОИНТЕРВАЛОВ ШКОЛЬНИКОВ ПРИ СМЕНЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОЯСОВ ЭЛЬМАН К.А., ГОРБУНОВ Д.В., ПРАСОЛОВА А.А., ТРУСОВ М.В.	121
СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»	
DEVELOPMENT OF NOVEL LENTIVIRAL CONSTRUCTS TO BE USED FOR COLOCALIZATION STUDIES MUYANGWA M., GARANINA E.E., RIZVANOV A.A., KHAIBULLINA S.F.....	123
PROTEIN MIXTURES AS MODEL FOR ANIMAL BIOLOGICAL FLUIDS SURFACE TENSION ANALYSIS ZARUDNAYA E.N., ZAITSEV S.YU.....	123
ДЕЙСТВИЕ ФРАКЦИИ КАПСАИЦИНОИДОВ СТРУЧКОВОГО ПЕРЦА НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МИТОХОНДРИЯХ АБДУЛЛАЕВА Г.Т., ИШИМОВ У.Ж., ЗИЯВИТДИНОВ Ж.Ф., ЭРГАШЕВ Н.А., АСРАРОВ М.И.	124
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ NADH-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ИЗ <i>METHYLOCOCCUS CAPSULATUS</i> (M) В ПРИСУТСТВИИ МЕТАНОБАКТИНА И CU^{2+} АВДЕЕВА Л.В.	125
АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ИЗОЦИТРАТЛИАЗЫ, МАЛАТСИНТАЗЫ, МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В КЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ГОМОГЕНАТА ПЕЧЕНИ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ АГАФОНОВА А.В., ГАЛОЧКИНА В.П.	125
АТР-ЗАВИСИМОЕ УСИЛЕНИЕ ПАЛЬМИТИНОВОЙ КИСЛОТОЙ МОНОАМИНОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ АДАКЕЕВА С.И., ДУБИНИН М.В., КРАСНОЩЕКОВА О.Э., САМАРЦЕВ В.Н.	126
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПИНЕАЛОНА НА КИСЛОТНУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ И ПРОЦЕССЫ ПОЛ В КРОВИ ПРИ ИНТЕНСИВНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ САИДОВ М.Б., АЙГУНОВА З.А.	127
ДЕЙСТВИЕ БЕНЗАМИДА НА АКТИВНОСТЬ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ 1 В ЯДРАХ ТИМОЦИТОВ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИСПЛАТИНА АСАТРЯН А.Л., АРЦРУНИ И.Г., МАТИНЯН К.С., ГЕВОРКЯН Э.С.	127
NSP70 ЗАЩИЩАЕТ НЕЙРОНАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ОТ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ИЗОФОРМ БЕТА- АМИЛОИДА БАРЫКИН Е.П., МИТЬКЕВИЧ В.А., КУЛИКОВА А.А., ПЕТРУШАНКО И.Ю., ЮРИНСКАЯ М.М., ВИНОКУРОВ М.Г., ЕВГЕНЬЕВ М.Б., КОЗИН С.А., МАКАРОВ А.А.	128
РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ПРОТОТИПИРОВАНИЯ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ БЕЛИНИТЕ М.А., ПЕРЕС Э.Л., ФАТТАХОВА А.Н.	128
АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДОВ СИСТЕМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В СОЧЕТАНИИ С ДРУГИМИ АНТИБИОТИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ БУЦКИНА Е.А.	129
ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ ВАЛИУЛЛИНА А.Х., ХАЙБУЛЛИНА С.Ф., МАРТЫНОВА Е.В., ИВАНОВА В.В., АНОХИН В.А., РИЗВАНОВ А.А.	130
ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ 2А-ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В КОНТЕКСТЕ МУЛЬТИЦИСТРОННОЙ АДЕНОВИРУСНОЙ КОНСТРУКЦИИ <i>IN VIVO</i> ГАРАНИНА Е.Е., РИЗВАНОВ А.А.	130
ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ И АКТИВНОСТИ КАЛЬПАИНОВ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ ГИБЕРНИРУЮЩИХ СУСЛИКОВ И ХРОНИЧЕСКИ-АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС ГРИЦЫНА Ю.В., ПОПОВА С.С., ВИХЛЯНЦЕВ И.М., ПОДЛУБНАЯ З.А.	131

СОДЕРЖАНИЕ

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ ИСМАИЛОВА Ж.Г., МУСАЕВА Н.А.	132
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ИММУНОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНДОПЕПТИДАЗЫ Л5 <i>LYSOBACTER</i> SP. XL1 НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ КАРАТОВСКАЯ А.П., РУДЕНКО Н.В., ЦФАСМАН И.М., ЛАМАН А.Г., БРОВКО Ф.А., ВАСИЛЬЕВА Н.В.	133
АДДИТИВНЫЙ ЭФФЕКТ ИЗОМЕРИЗАЦИИ ПО ASP7 И ФОСФОРИЛОВАНИЯ ПО SER8 БЕТА-АМИЛОИДА НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ИОНАМИ ЦИНКА И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЕЧКО О.И., МИТЬКЕВИЧ В.А., КУЛИКОВА А.А., КОЗИН С.А., МАКАРОВ А.А.	133
ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ АМФИБИЙ УРБАНИЗИРОВАННОЙ ТЕРРИТОРИИ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ КОЗЫРЕВА А.В., РОМАНОВА Е.Б., СОРОЧКИНА Л.В.	134
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕТЕРОГЕННЫХ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ФИЦИНА И ТРИПСИНА, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНОМ ХИТОЗАНЕ КОРОЛЕВА В.А., ЛОГИНОВА О.О., ХОЛЯВКА М.Г., АРТЮХОВ В.Г., САЗЫКИНА С.М., ОЛЬШАННИКОВА С.С.	135
ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ЛАКТОБАКТЕРИЙ И СЕЛЕНОПИРАНА НА ТИРЕОИДНЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ КОТКОВА Т.В.	135
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ ПАЛЬМИТАТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛИПИДНОЙ ПОРЫ И АТФ- ЗАВИСИМОГО КАЛИЕВОГО КАНАЛА В МЕХАНИЗМЕ SR2+-ИНДУЦИРОВАННЫХ КОЛЕБАНИЙ ИОННЫХ ПОТОКОВ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ КОЧИШ И.И., БЕЛОСЛУДЦЕВА Н.В.	136
МЕТАБОЛОМИКА КРИОБИОЗА ПИЯВКИ <i>OZOBRANCHUS JANTSEANUS</i> КУЗНЕЦОВА С.В., СУЗУКИ Д., КИКАВАДА Т., САБИРОВ Р.М., ГУСЕВ О.А.	137
АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ У ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ <i>RHODOVULUM STEPPENSE</i> ШТАММ А-20S ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПИТАНИЯ ЛАРЧЕНКОВ В.М., АХМЕД А.Х., КОМАРОВА Н.Р., КОЛЕСНИКОВА Н.В., СОРОКИНА Т.В.	137
ОЧИСТКА И КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ БАКТЕРИЙ <i>RHODOVULUM</i> <i>STEPPENSE</i> ШТАММ А-20S ЛЯЩЕНКО М.С., ГАТАУЛЛИНА М.О.	138
ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ НА ЭКСПРЕССИЮ РЕЦЕПТОРОВ TNF-1 КЛЕТОК РАДЗЮКЕВИЧ Я.В., СЕРОВ Д.А., ЗУБОВА С.В., КАБАНОВ Д.С.	139
ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТВОРА ХИТОЗАНА В АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЕ РОДИНА Н.А., БЕЗРУКОВ М.Е.	139
УРОКИНАЗНАЯ СИСТЕМА АКТИВИРУЕТ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ В НЕЙРОНАХ, ОПОСРЕДУЮЩИЕ ИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ И НАПРАВЛЕННЫЙ РОСТ АКСОНОВ РЫСЕНКОВА К.Д., СЕМИНА Е.В., КАЗАРНОВСКИЙ М.С., РУБИНА К.А., ТКАЧУК В.А.	140
АККУМУЛИРОВАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ЧЕСНОКОМ ОЗИМЫМ В УСЛОВИЯХ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ СЕРЕДИН Т.М., КРИВЕНКОВ Л.В., АГАФОНОВ А.Ф., ГЕРАСИМОВА Л.И.	141
2-(1,5-ДИНИТРО-6-МЕТОКСИ-3,7-ДИАЗАБИЦИКЛО[3.3.1]НОН-3-ИЛ)-АМИНОКИСЛОТЫ КАК ОСНОВЫ ДЛЯ ДИЗАЙНА НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ СУРОВА И.И., АТРОЩЕНКО Ю.М., ИВАНОВА Е.В., ШАРКОВА Е.В.	141
ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА RAD51B В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ <i>PICCHIA PASTORIS</i> ТИМИН Г.В., СОБОЛЕВА Н.Г., ШАЛГУЕВ В.И.	142

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКРЕТОРНЫЕ БЕЛКИ МИКРОСПОРИДИЙ КАК ИНСТРУМЕНТ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА КЛЕТКУ НАСЕКОМОГО-ХОЗЯИНА ТИМОФЕЕВ С.А., СЕНДЕРСКИЙ И.В., ПАВЛОВА О.А., ДОЛГИХ В.В.	143
ОЦЕНКА СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ТАКСОНАМИ ФЕСТУКОИДНЫХ ЗЛАКОВ ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ ПО АМИНОКИСЛОТНОМУ СОСТАВУ СЕМЯН ТИХОНЮК В.А.	143
ДВУХДОМЕННЫЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЛАККАЗЫ ИЗ ШТАММОВ <i>STREPTOMYCES VIRIDIOCHROMOGENES</i> AC-629 И <i>STREPTOMYCES LIVIDANS</i> AC-1709: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРУБИЦИНА Л.И., ЛИСОВ А.В., ЛЕОНТЬЕВСКИЙ А.А.	144
РОЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОЙ ЦИРКУЛЯЦИИ ГЛУТАТИОНА В ЗАЩИТЕ БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО СУПЕРОКСИДА ТЮЛЕНЕВ А.В., СМИРНОВА Г.В., ОКТЯБРЬСКИЙ О.Н.	145
ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОНАТОВ ЗД-МЕТАЛЛОВ НА КОМПЛЕМЕНТФИКСИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ G В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЫШЕЙ УСАЧЕВ С.А., КНЯЗЕВА О.А.	145
ЭФФЕКТ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ СЫВОРОТКИ МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ ФАТЕЕВА С.Е., КУРДЮМОВА И.В., ЛЕОНОВА Л.Е.	146
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ БЕЛКОВ NUDT12 И NUDT13 В РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ NAD В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА ХАРЧЕНКО В.Д., НИКИФОРОВ А.А., КУЛИКОВА В.А.	147
ГИПЕРПРОДУКЦИЯ ПРОТЕИНАЗЫ НТРА ИЗ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА ОСНОВЕ ВЕКТОРА PDG148 ЧЕРНОВА Л.С., ГАЙНУТДИНОВА З.Р., ШАРАФУТДИНОВ И.С., КАЮМОВ А.Р.	148
ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ, КАТИОНОЗАВИСИМОСТИ И БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДОГЛИКАНГИДРОЛАЗЫ БАКТЕРИОФАГА T5 ШАВРИНА М.С., МОЛОЧКОВ Н.В., ЗИМИН А.А., ЧЕРНЫШЕВ С.В., МИКУЛИНСКАЯ Г.В.	148
ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИК ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ФЕНАЗИНОВЫХ МЕТАБОЛИТОВ ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ И КЛЕТОК <i>PSEUDOMONAS AURANTIACA</i> ШАПИРО М.А.	149
ХИТИНРЕДУЦИРУЮЩИЕ ФЕРМЕНТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ БАРЕНЦЕВА МОРЯ УЧАСТВУЮЩИХ В БИОДЕГРАДАЦИИ ТКАНЕЙ РАКООБРАЗНЫХ ШУМСКАЯ Н.В., МУХИН В.А., НОВИКОВ В.Ю.	150
АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНоиДА ЦИНАРОЗИДА НА МОДЕЛИ МИТОХОНДРИЙ ЭРГАШЕВ Н.А., КОМИЛОВ Э.ДЖ., ТАШБЕКОВА М.Х., АСРАРОВ М.И., ЭШБАКОВА К.А., КОМИЛОВ. Б.ДЖ. .	151
СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ» DESIGN AND CONSTRUCTION OF THE E.COLI PLASMID CONTAINING THE FULL-LENGTH COPY OF ADENOVIRUS TYPE 6 GENOME FOR SUBSEQUENT USE IN CANCER THERAPY DEMIDOVA E.V., TARASOVA M.V., KOCHNEVA G.V., CHUMAKOV P.V., NETESOV S.V.	152
INVESTIGATION OF THE FORMATION OF SILVER NANOPARTICLES BY <i>STREPTOMYCES</i> SP. BDU-C25 GASANOVA S.A., GULIYEVA S.M., SHAHGELDIEVA N.A., GANBAROV KH.G., EYVAZOVA Q.I., AGHAMALIYEV Z.A., RAMAZANOV M.A.	152
NEW LIPASE PRODUCING BACILLI STRAINS ISOLATED FROM GEOTHERMAL SPRINGS OF ARMENIA AND NAGORNO-KARABAKH SHAHINYAN G.S.	153

СОДЕРЖАНИЕ

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГИДРОГЕЛЯ «ХИТОАСК•SI» АДАВИЯ ФАДХЕЛ АБААС АЛЬЗУБАИДИ, ТЯПКИН С.А., КСЕНОФОНТОВА О.Ю., ЗУДИНА И.В.....	154
ВЛИЯНИЕ КОЛОНИЗАЦИИ МЕТИЛОБАКТЕРИЯМИ РОДА <i>METHYLOPILA</i> НА РОСТ, МОРФОГЕНЕЗ И АНТИОКСИДАНТНУЮ ЗАЩИТУ РАСТЕНИЙ АГАФОНОВА Н.В., КАПРУЛЛИНА Е.Н., МУСТАХИМОВ И.И.	154
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК VERO И ВНК-21 CLONE 13 ДЛЯ НАКОПЛЕНИЯ БИОМАССЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ШТАММА ВИРУСА БЕШЕНСТВА <i>L.PASTER</i> АЛИ С.Г., ЛАВРИК А.А., БАГЛАЙ О.А., НОВИКОВА О.Ю.....	155
СОДЕРЖАНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ФОРМ В МИКРОБОЦЕНОЗАХ ПОЧВ РЕКРЕАЦИОННЫХ ЗОН ГОРОДОВ ЮГА РОССИИ АЖОГИНА Т.Н.	156
СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ АЛЕКСЕЕНКО К.П., ЛЕНЬ Н.В., ВОЛЧЕНКО Н.Н., САМКОВ А.А.	157
АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЧИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИЕЙ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ АНДРЕЕВА Т.С., МЕЛЬНИКОВА Е.А., ЗАЙЦЕВА Е.А.	157
ШТАММ <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> FSA3LC ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ АНИСИМОВА Е.А., ЯРУЛЛИНА Д.Р.	158
ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПОЛЕЗНЫМИ СВОЙСТВАМИ, ИЗ ТКАНЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЙ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM L.</i>) АФОНИН А. М., НОВОСЕЛОВА Н.Н., СУЛИМА А.С., АХТЕМОВА Г.А., ЖУКОВ В.А., БОРИСОВ А.Ю., ТИХОНОВИЧ И.А.	159
ЭПИФИТНОЕ ДРОЖЖЕВОЕ СООБЩЕСТВО НА ОРГАНАХ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА БАБАЖАНОВА В.А.....	159
ИММОБИЛИЗОВАННЫЙ ФИЦИН – ДЕСТРУКТОР МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК БАЙДАМШИНА Д.Р., КАЮМОВ А.Р., ХОЛЯВКА М.Г., ТРИЗНА Е.Ю.....	160
ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА <i>BACILLUS GINSENGIHUMI</i> , ПРОДУЦЕНТА ФИТАЗЫ БАРАНОВА Д.С., ТОЙМЕНЦЕВА А.А., ШАРИПОВА М.Р.....	161
КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНЫХ И АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ЭКДИСТЕРОИДСОДЕРЖАЩИХ СУБСТАНЦИЙ БЕЗМАТЕРНЫХ К.В., ВОЛОДИН В.В., ВОЛОДИНА С.О., СМИРНОВА Г.В., ОКТЯБРЬСКИЙ О.Н.....	161
РАЗРАБОТКА ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМЫ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРО-ДНК ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА БОГОМОЛОВ А.И., КАЛАШНИКОВ А.Е., ГЛАДЫРЬ Е.А.	162
ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА БЕНЗОАТА БАКТЕРИЕЙ <i>RHODOCOCCLUS OPACUS 1CP</i> БОРЗОВА О.В., ЕМЕЛЬЯНОВА Е.В., СОЛЯНИКОВА И.П.	163
БИОПЛЁНКИ, СФОРМИРОВАННЫЕ МИКРОБНЫМ СООБЩЕСТВОМ ЛАБОРАТОРНОГО АНАММОКС- БИОРЕАКТОРА ПРИ ПРОТОЧНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ БОЧКОВА Е.А., НОЖЕВНИКОВА А.Н.	164
ВИРУЛЕНТНОСТЬ КОНТРОЛЬНОГО ШТАММА ВИРУСА БЕШЕНСТВА CVS (20%-МОЗГОВАЯ СУСПЕНЗИЯ) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ ХРАНЕНИЯ БУРКОВА В.В., ЛАВРИК А.А., МОРОЗ О.Е., ВЕЛИКИЙ И.С.	164

СОДЕРЖАНИЕ

РОЛЬ ЛОКУСА CD2V/C-TYPE LECTIN LIKE В АНТИГЕННОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ БУРМАКИНА Г.С., ТИТОВ И.А., МИМА К.А., МАЛОГОЛОВКИН А.С.	165
ВЫЖИВАЕМОСТЬ И СОСТАВ ПОПУЛЯЦИИ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ БЫРСА М.Н.	166
АССОЦИАТИВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ЯБЛОННОЙ ТЛИ (<i>APHIS POMI</i> , DEGEER, 1773), ПАРАЗИТИРУЮЩЕЙ НА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЯХ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ ВЕРХОВСКИЙ Р.А., АБАЛЫМОВ А.А., ГЛИНСКАЯ Е.В.	167
ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ <i>RHYSCOMITRELLA PATENS</i> И ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ ВИНОГРАДОВА С.В., БАРИНОВА Е.Д., КНЯЗЕВ А.Н., АРАПИДИ Г.П., ФЕСЕНКО И.А., УРБАН А., ХАЗИГАЛЕЕВА Р.А., ШАВАРДА А.Л., ИГНАТОВ А.Н.	168
ВЫДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ ГНИЛОСТНОЙ МИКРОФЛОРЫ В СЛОВИЯХ СЛОСОВАНИЯ ГАБДЕЛХАДИЕВА А.Т., КАЮМОВ А.Р.	168
НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗ ПРИЗАБОЙНЫХ ЗОН НЕФТЯНЫХ СКВАЖИН С ВЯЗКОЙ НЕФТЬЮ И ИХ СВОЙСТВА ГАЛЛЯМОВА С.Р., СОРОКИНА А.В., МОРОЗОВ Н.В., БАРДИНА Т.С.	169
СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МИКРОБОЦЕНОЗА СМОРОДИНОВОЙ ТЛИ (<i>APHIS SCHNEIDERI</i> V.) В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ ГАМИДОВА Ф.Э., ПЕТЕРСОН А.М.	170
ВЫДЕЛЕНИЕ БАЦИЛЛЯРНОГО БАКТЕРИОФАГА С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ ДЕЙСТВИЯ ИЗ ЧЕРНОЗЕМА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН ГАРИФУЛИНА К.И., УЛЬЯНОВА В.В., ШАХ МАХМУД РАИХАН	171
УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ МОДИФИКАЦИИ КЛЕТОК ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЛЕЙ - ХАОТРОПОВ ГОНЧАРОВ Р.Г., МАЧУЛИН А.В., ШОРОХОВА А.П., ПОЛИВЦЕВА В.Н., СУЗИНА Н.Е.	171
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ МИКОПЛАЗМ К ФТОРХИНОЛОНАМ: РЕЗИСТОМ <i>ACHOLEPLASMA LAIDLAWII</i> ГРИГОРЬЕВА Т.Ю., МЕДВЕДЕВА Е.С., МУЗЫКАНТОВ А.А., БАРАНОВА Н.Б., СИНЯГИНА М.Н., БУЛЫГИНА Е.А., ДАВЫДОВА М.Н., ШАЙМАРДАНОВА Г.Ф., ЧЕРНОВА О.А., ЧЕРНОВ В.М.	172
ИНДУКЦИЯ НЕКУЛЬТИВИРУЕМОГО СОСТОЯНИЯ БАКТЕРИЙ ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ ДАНИЛОВА М. А.	173
ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМИДЫ PPA21A <i>PESTOBACTERIUM ATROSEPTICUM</i> ДЮБО Ю.В.	174
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ БИОТЕСТОВ ЕФРЕМОВА Л.В.	174
БАКТЕРИАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЗАПАДНОГО СКЛОНА Г. ЭЛЬБРУС ЖАРЧЕНКО Н.П., БУЛАТ С.А., КАЛАШНИКОВ А.А.	175
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ГИФОСФЕРЫ, ПЛОДОВЫХ ТЕЛ БАЗИДИОМИЦЕТОВ РОДА <i>AMANITA</i> И КОНТРОЛЬНОЙ ПОЧВЫ ЗАГРЯДСКАЯ Ю. А.	176
ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТОВ <i>METHYLOBACTERIUM EXTORQUENS</i> ПО ГЕНАМ ПГБ-СИНТАЗ (PHAS) ЗАМАХАЕВА С.А., ЕКИМОВА Г.А., ФЕДОРОВ Д.Н.	176

СОДЕРЖАНИЕ

ОЦЕНКА ВЫЖИВАЕМОСТИ БАКТЕРИЙ РОДА <i>LACTOBACILLUS</i> В УСЛОВИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЗАРИПОВА А.Р.	177
ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ПРИЗНАКОВ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ВОДЫ ИВАНЧИНА Н.В., ФАРРАХОВА Ф.Р., ГАРИПОВА С.Р.	178
НИТРАТ – И ЖЕЛЕЗОВОСТАНАВЛИВАЮЩИЕ БАКТЕРИИ ИЗ ХОЛОДНЫХ МЕСТ ОБИТАНИЯ КАЛИНИНА А.В., ДАМБИНОВА Е.Ц., ЗАХАРЮК А.Г.	178
ПРАКТИЧЕСКОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВИРУСОВ КИРЯКОВ В.С., КАТАЕВ Я.И.	179
ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСА ХИТОЗАН-ИОД В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ПРО- И ЭУКАРИОТ КОВАЛЁВА Я.О., ШУРШАЛОВА Н.Ф., ЗУДИНА И.В., БЕЛЯКОВА О.А.	180
МИМЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ V3-ПЕТЛИ HIV-1 GP120 В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО СРЕДСТВА АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ КОЛОБЫНИНА К.Г., ШМИДТ Б., РОРХОФЕР А., ГРОСС А., АЙХЛЕР Ю.	180
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АКТИНОБАКТЕРИЙ ВИДА <i>RHODOCOCCUS WRATISLAVIENSIS</i> – ДЕСТРУКТОРОВ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ КОРСАКОВА Е.С., ПЛОТНИКОВА Е.Г.	181
ДИФФЕРЕНЦИРОВКА БАКТЕРИЙ <i>PROVIDENCIA STUARTII</i> ПРИ РОЕНИИ КУРМАШЕВА Н.Р., ЕВТЮГИН В.Г., МАРДАНОВА А.М.	182
ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РОСТ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ АКТИНОБАКТЕРИЙ ЛЕНЬ Н.В., АЛЕКСЕЕНКО К.П., ВОЛЧЕНКО Н.Н., САМКОВ А.А.	182
ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ВНУТРИ- И ВНЕКЛЕТОЧНОГО РЕДОКС-СТАТУСА НА СПОСОБНОСТЬ К БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ЛЕПЕХИНА Е.В., СМИРНОВА Г.В., МУЗЫКА Н.Г., ОКТЯБРЬСКИЙ О.Н.	183
БИНАЗА А НЕ СНИЖАЕТ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МАКРОФАГОВ МАКЕЕВА А.В., НЕСМЕЛОВ А.А., ЭКТОР АЛЕНАНДРО КАБРЕРА ФУЕНТЕС, ИЛЬИНСКАЯ О.Н.	184
ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ В ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ И ИХ СПОСОБНОСТЬ К ТОКСИНООБРАЗОВАНИЮ МАЛЮТИНА Л.И., МОСКВИНА Н.В., ЧЕТИНА О.А.	185
МЕХАНИЗМ СИНЕРГИДНОГО ИНГИБИТОРНОГО ЭФФЕКТА 4-ГЕКСИЛРЕЗОРЦИНА И АЗИТРОМИЦИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК МАРТЬЯНОВ С.В., ЖУРИНА М.В., ПЛАКУНОВ В.К.	185
ДЕЛЬТА-ЭНДОТОКСИНЫ КАК ФАКТОР АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МАРТЬЯНОВА Д.И., КАМЕНЕК Л.К.	186
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРАЙМЕРНЫХ СИСТЕМ, РАЗРАБОТАННЫХ НА УЧАСТОК 16S-23S ГЕНА ДНК, ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ФИТОПЛАЗМ МАТЯШОВА Г.Н., МАЗУРИН Е.С., ЗАЕЦ В.Г., КАМАЕВ И.О.	187
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ЭПИФИТНОЙ МИКРОБИОТЫ РАСТЕНИЙ <i>ARTEMISIA NITROSA</i> WEB. И <i>ARTEMISIA SAISOLOIDES</i> WILLD МЕЛИКЯН А.А.	187

СОДЕРЖАНИЕ

АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПОЛИМЕРНОГО СОЕДИНЕНИЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА МИНДИБЕКОВА Д.Е., ШУРШАЛОВА Н.Ф., НЕЧАЕВА О.В., ЗАЯРСКИЙ Д.А.	188
ОКСАЛАТОКСИДАЗЫ БАКТЕРИИ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> 26Д КАК ФАКТОР БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ГРИБНЫХ ФИТОПАТОГЕНОВ НАФИКОВА А.Р., ЛЯПИНА А.Р.	188
СПОСОБЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ МЕТАНОГЕНЕЗА ПРИ ИЗБЫТОЧНОМ НАКОПЛЕНИИ ЛЕТУЧИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В АНАЭРОБНОМ РЕАКТОРЕ НИКИТИНА А.А., ЛИТТИ Ю.В.	189
ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ И ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ БАКТЕРИЙ РОДА <i>THIOFLEXOTHRIX</i> - <i>THIOFLEXOTHRIX PSEKUPSII</i> GEN. NOV., SP. NOV ОРЛОВА М.В., СИНЮГИНА Д.И., ЛЮТОВА Л.В.	190
ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ХОЛОДНЫХ МЕТАНОВЫХ СИПОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ ОШКИН И.Ю.	190
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ: ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ ОШУРКОВА В.И., ЛАУРИНАВИЧЮС К.С., ЩЕРБАКОВА В.А.	191
ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ У ЩУК (<i>ESOX LUCIUS</i>) В ОЗЕРЕ КАМЕННОЕ (БАССЕЙН БЕЛОГО МОРЯ) ПАРШУКОВ А.Н., ИЕШКО Е.П., ЮХИМЕНКО Л.Н.	192
ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ШТАММОВ ГЕНОВАРИАНТОВ <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> БИОВАРА ЭЛЬ ТОР К ДЕЙСТВИЮ ОСМОТИЧЕСКОГО И ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССОВ ПЛЕХАНОВ Н.А., ЗАДНОВА С.П., КРЕПОСТНОВА И.М., ЕРОХИН П.С., СМИРНОВА Н.И.	192
АЭРОБНЫЕ МЕТИЛОБАКТЕРИИ: НОВЫЕ ТАКСОНЫ И ИХ ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ ПОРОШИНА М.Н., МУСТАХИМОВ И.И.	193
РАЗВИТИЕ СИСТЕМЫ КЛАССИФИКАЦИИ И МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ НА УРОВНЕ ВИДА (НА ПРИМЕРЕ РОДА <i>RATHAUBACTER</i>) ПРИСЯЖНАЯ Н.В., СТАРОДУМОВА И.П., ТАРЛАЧКОВ С.В., АВТУХ А.Н., ДОРОФЕЕВА Л.В., ЕВТУШЕНКО Л.И.	194
ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ <i>RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM</i> BV. VICIAE К ТОКСИЧНЫМ МЕТАЛЛАМ ПУХАЛЬСКИЙ Я.В., БЕЛИМОВ А.А., АЗАРОВА Т.С., МАКАРОВА Н.М., САФРОНОВА В.И., ШАПОШНИКОВ А.И., ТИХОНОВИЧ И.А., НОСИКОВ В.В., ЛИТВИНСКИЙ В.А., ЗАВАЛИН А.А.	195
ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ МАРИ КРАСНОЙ (<i>CHENOPODIUM RUBRUM</i> L.), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ СОЛЕРАЗРАБОТОК (Г. СОЛИКАМСК, ПЕРМСКИЙ КРАЙ) ПЬЯНКОВА А.А., НАЗАРОВ А.В.	195
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ ДИОКСИГЕНАЗ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ ХЛОРФЕНОКСИУКСУСНЫХ КИСЛОТ САГИТОВА А.И., СТАРИКОВ С.Н., ГАФАРОВ Р.Ф., ГАВРИЛЬЧЕНКО А.Г., ЕГОЗАРЬЯН Н.С., СТАМБУЛИДИ А.А., ГИМРАНОВ Э.Р., КАМАЛОВ А.М.	196
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЁНОК БАКТЕРИЯМИ <i>ESCHERICHIA COLI</i> В ПРИСУТСТВИИ АНТИБИОТИКОВ САМОЙЛОВА З.Ю., МУЗЫКА Н.Г., СМИРНОВА Г.В., ОКТЯБРЬСКИЙ О.Н.	197

СОДЕРЖАНИЕ

ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ УКРОПА И ПЕТРУШКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ САРВАРОВА Е.Р., БЛАГОВА Д.К., ХАЙРУЛЛИН Р.М.....	198
ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ПОИСКА ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ АНТИБИОТИКИ С РАЗЛИЧНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ САЦУНКЕВИЧ Н.Е., ТИТОК М.А.	198
АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ <i>PESTOVACTERIUM ATROSEPTICUM</i> SCRI1043 НА ГОЛОДАНИЕ СЕРГЕЕВА Ю.П., ГОРШКОВ В.Ю., ДАМИНОВА А.Г., ГОГОЛЕВ Ю.В., ПЕТРОВА О.Е.	199
ПЛАЗМИДЫ ГРУППЫ INCR-9 КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВЕКТОРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КЛОНИРОВАНИЯ СЕЧЕНИКОВ А.А., ТИТОК М.А.	199
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА СИРИЦИНА В.С., ШУРШАЛОВА Н.Ф., ЗУДИНА И.В.	200
ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ ФАГОВОЙ ТРАНСДУКЦИИ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК В КИШЕЧНИКЕ МЫШИ СКОБЛИКОВ Н.Э., ПАНЧЕНКО Н.А., ДЬЯЧЕНКО И.А., МУРАШЕВ А.Н., ЗИМИН А.А.	201
ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ СКОРЛУПКИНА Н.Н., ГРОМОВЫХ Т.И., БЛИНКОВА Л.П.	201
РОСТ АКТИНОБАКТЕРИИ <i>RHODOCOCCLUS OPACUS</i> 1CP НА БЕНЗОАТЕ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА СОЛЯНИКОВА И.П., ГОЛОВЛЕВА Л.А.	202
<i>CLAVIBACTER MICHIGANENSIS</i> SUBSP. <i>SALSOLUS</i> SUBSP. NOV. ИЗ МИКРОБИОМА <i>SALSOLA</i> SP. (СОЛЯНКА), ПУСТЫНЯ КЫЗЫЛ-КУМ СТАРОДУМОВА И.П., ТАРЛАЧКОВ С.В., ПРИСЯЖНАЯ Н.В., АВТУХ А.Н., ВАСИЛЕНКО О.В., ДОРОФЕЕВА Л.В.	203
ИНГИБИТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНК БАКТЕРИЯМИ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА ОСНОВЕ ТИОПРОИЗВОДНЫХ 2(5Н)-ФУРАНОНА ТРИЗНА Е.Ю., ХАКИМУЛЛИНА Э.Н., БАЙДАМШИНА Д.Р., КУРБАНГАЛИЕВА А.Р., КАЮМОВ А.Р.	203
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКОВОГО ГИДРОЛИЗАТА В СОСТАВЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ УЗБЕКОВА О.Р., МУХИН В.А.	204
ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ СУЛЬФИТА (SO ₃) В РАСТУЩИХ КУЛЬТУРАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> УШАКОВ В.Ю., СМЕРНОВА Г.В., ОКТЯБРЬСКИЙ О.Н.	205
ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА МОРФОЛОГИЮ И УЛЬТРАСТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ШТАММОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ И ГРАМПЛОЖИТЕЛЬНЫХ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИЙ ФЕДЧЕНКО В.А., ПОЛИВЦЕВА В.Н., РОСС Д.В., ХОЛОДЕНКО В.П., СУЗИНА Н.Е.	206
ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ-АНТАГОНИСТОВ ДЛЯ БИОКОНТРОЛЯ ФИТОПАТОГЕНОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ХАДИЕВА Г.Ф., ЛУТФУЛЛИН М.Т.	206
ФОРМИРОВАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ У <i>MAGNETOSPIRILLUM GRYPHISHWALDENSE</i> ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ ХОХЛОВА Г.В., АБАШИНА Т.Н.	207
СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ НЕФТИ СИНТЕЗИРОВАТЬ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА ЧЕРНЯВСКАЯ М.И., НОВИКОВ А.Г., ГАЙДУК П.И., ТИТОК М.А.	208

СОДЕРЖАНИЕ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ ШТАММОВ <i>MORGANELLA MORGANII</i> К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШАЙДУЛЛИНА Э.Р., ШАЛАВИНА М.А., МАРДАНОВА А.М.	209
ИЗУЧЕНИЕ ПОЛЕЗНЫХ ДЛЯ АГРОТЕХНОЛОГИИ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАСТЕНИЯМИ ЗАСОЛЁННЫХ ПОЧВ ШАРАВИН Д.Ю., КОВАЛЕВСКАЯ Н.П.	209
ПРОТЕАЗА НТРА ИЗ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> ПОДАВЛЯЕТ ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> И <i>STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS</i> ШАРАФУТДИНОВ И.С., КЛИНГЕР-ШТРОБЕЛЬ М., ЧЕРНОВА Л.С., ГАЙНУТДИНОВА З.Р., КАЮМОВ А.Р.	210
ГАЛОТОЛЕРАНТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ КЛАССА <i>АСТИНОВАСТЕРИЯ</i> ИЗ ТЕХНОГЕННО-МИНЕРАЛЬНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ РАЙОНА ПРОМЫШЛЕННЫХ СОЛЕРАЗРАБОТОК ШИПОВА А.В., КОРСАКОВА Е.С., ШЕСТАКОВА Е.А.	211
ВЛИЯНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ПРИ МОДУЛЯЦИИ РЕДОКС-СТАТУСА КЛЕТКИ ШУМИЛОВСКИХ В.С., УШАКОВ В.Ю., СМИРНОВА Г.В., ОКТЯБРЬСКИЙ О.Н.	212
СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ» OBTAINING AND CRYSTALLIZATION OF THE COMPLEX OF EUKARYOTIC TRANSLATION INITIATION FACTORS EIF2BETA AND EIF5 АРКНІРОВА V.I., STOLBOUSHKINA E.A., MALYSHEVSKAYA K.K., MITROSHIN I.V., GARBER M.B.	213
ASSOCIATION OF STATUS HER-2/NEW WITH POLYMORPHISM P72R (TP53, RS1042522) IN WOMEN WITH BREAST CANCER КІРЕН V.N., MELNOV S.B.	213
RNA-INTERFERENCE DETECTION SYSTEM: T-TYPE CALCIUM CHANNEL CASE ШТЕФАН N.L., ВАТІУК M.U., БОЛДЫРЕВ O.I., ДОСЕНКО V.E., ШУБА Y.M.	214
COMPARISON OF TWO TRANSIENT TYPE OF TRANSFECTIONS: WHO WINS? ЖУБАНОВА G.S., КУЛЫАССОВ A.T.	214
РОЛЬ PAK1-A-RIX-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК АВИЛОВА Е.А.	215
ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ СВОЙСТВА GRE-ПОДОБНЫХ ФАКТОРОВ РАДИОУСТОЙЧИВОЙ БАКТЕРИИ <i>DEINOCOCCUS RADIODURANS</i> АГАПОВ А.А., ЕСЮНИНА Д.Е., КУЛЬБАЧИНСКИЙ А.В.	216
ВКЛАД ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DBH-AS1 В ПАТОГЕНЕЗ ПАНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ И МИГРЕНИ АНУЧИНА А.А., СКОРОБОГАТЫХ К.В., СЕРГЕЕВ А.В., АФОНЧИКОВА Е.В., КОНДРАТЬЕВА Н.С.	216
КОНСТРУИРОВАНИЕ LUX-БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК <i>ESCHERICHIA COLI</i> И ГИБРИДНЫХ ПЛАЗМИД С ГЕНАМИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮЦЕФЕРАЗ ПОД КОНТРОЛЕМ ИНДУЦИРУЕМЫХ ПРОМОТОРОВ БАЖЕНОВ С.В., МАНУХОВ В.И., КОНОПЛЁВА М.Н.	217
ПОИСК ГЕНА ANF У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ БЕСЧЕЛЮСТНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ БАЙРАМОВ А.В., ЕРОШКИН Ф.М., КУЧЕРЯВЫЙ А.В., ЗАРАЙСКИЙ А.Г.	218
РОЛЬ ФАКТОРА СБОРКИ ХРОМАТИНА CHD1 В РЕГУЛЯЦИИ СТРУКТУРЫ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ БАРАНОВСКАЯ И.Л., КОНЕВ А.Ю.	218
ПЛАНАРИИ <i>SCHMIDTEA MEDITERRANEA</i> КАК МОДЕЛЬ ДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ СУКЦИНАТ ДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА БОНДАРЕНКО С.М., ЕРМАКОВ А.М.	219

СОДЕРЖАНИЕ

РЕДАКТИРОВАНИЕ ПРОЛИЛ-ТРНК СИНТЕТАЗОЙ БАКТЕРИАЛЬНОГО ТИПА ПРОДУКТОВ ОШИБОЧНОГО УЗНАВАНИЯ АЛАНИНА БОЯРШИН К.С., ПРИСС А.Е., РАЕВСКИЙ А.В., КРИКЛИВЫЙ И.А., ИЛЬЧЕНКО Н.Н., ДУБЕЙ И.Я., ЯРЕМЧУК А.Д., ТУКАЛО М.А.	220
ПОЛУЧЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНО МЕЧЕНЫХ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ПОЛИРИБОСОМ БРИЛЬКОВА М.Е., ШИРОКОВ В.А.	221
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЭКСПАНСИНА И РАМНОГАЛАКТУРОНАНЛИАЗЫ В ВИРУЛЕНТНОСТИ ФИТОПАТОГЕНА <i>PESTOBACTERIUM ATROSEPTICUM</i> БУНКЕВИЧ Е.Ю.	221
РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МАЛЫМИ НЕКОДИРУЮЩИМИ 6S-1 И 6S-2 РНК <i>BACILLUS SUBTILIS</i> БУРЕНИНА О.Ю., ЕЛКИНА Д.А., ТОЛКЕН К., ЛОГАЧЁВА М.Д., ХАРТМАНН Р.К., КУБАРЕВА Е.А.	222
ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ СЕМЕЙСТВА NF1 В ХРОМАТИНЕ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА ТРИПТОФАНДИОКСИГЕНАЗЫ КРЫСЫ НА МОДЕЛИ АКТИВНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ ВИХНИНА М.В., БОБРОВ Е.А., РОМАНОВСКАЯ Е.В., ЧИХИРЖИНА Г.И.	223
ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЕ СОНИ-ПОЛЧКА (<i>GLIS GLIS</i>) ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ ГАЗИЗОВА Г.Р., ТЯПКИНА О.В., ЛОГАЧЕВА М.Д., НУРУЛЛИН Л.Ф., ВИХЛЯНЦЕВ И.М., А. ИШИХАРА, Н. ИШИОКА, ГУСЕВ О.А.	223
ОЧИСТКА ПРОТЕИНАЗЫ HTRA ИЗ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> 168 ИЗ КЛЕТОК РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА <i>ESCHERICHIA COLI</i> BL21 РЕТ-HTRA ГАЙНУТДИНОВА З.Р., ЧЕРНОВА Л.С., ШАРАФУТДИНОВ И.С., КАЮМОВ А.Р.	224
ФАКТОР ЯДЕРНОГО ЭКСПОРТА МРНК NXF1 В СЕМЕННИКАХ <i>D. MELANOGASTER</i> ИМЕЕТ СПЕЦИФИЧНУЮ ИЗОФОРМУ ГИНАНОВА В.Р., ЯКИМОВА А.О., КЛИВЕР С.Ф., АЦАПКИНА А.А., ГОЛУБКОВА Е.В., МАМОН Л.А.	225
РЕСТРИКЦИОННЫЕ КАРТЫ ДЛЯ ВИДОВ ТЛЕЙ РОДОВ <i>MEGOURA</i> И <i>SCHIZAPHIS</i> ГОЛОВЕНЧИК В.И.	225
ЦЕПЬ СПЕЦИФИЧНАЯ ОТ-КПЦР ГЕНОВ КВОРУМ СЕНСИНГА <i>PSEUDOMONAS SYRINGAE</i> PV. <i>TOMATO</i> DC3000 ГОРБУНОВА А.С., ШЛЫКОВА Л.В., ГОГОЛЕВА Н.Е., ГОГОЛЕВ Ю.В.	226
ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНОМНЫХ БИБЛИОТЕК АКТИВНЫХ ПРОМОТОРОВ ДИДЫЧ Д.А., МЕДВЕДЕВА Н.И., КОПАНЦЕВ Е.П., АКОПОВ С.Б., НИКОЛАЕВ Л.Г., СВЕРДЛОВ Е.Д.	227
ВЛИЯНИЕ ОГРАНИЧИТЕЛЬНОЙ ДИЕТЫ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ОСОБЕЙ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> СО СВЕРХАКТИВАЦИЕЙ ГЕНОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ ДОБРОВОЛЬСКАЯ Е.В., ПЛЮСНИНА Е.Н., СОЛОВЬЕВ И.А., МОСКАЛЕВ А.А.	227
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ HRPL-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ <i>PESTOBACTERIUM CAROTOVORUM</i> ДОМЕНИКАН А.В., КУЗЬМИЧ С.В., НИКОЛАЙЧИК Е.А.	228
ГЕН ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 6 В ПОПУЛЯЦИЯХ РУССКИХ, БАШКИР И НАГАЙБАКОВ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ – ТОЧКОВЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ 745C>T ЕВДОКИМОВ А.В., БУРМИСТРОВА А.Л., СТАШКЕВИЧ Д.С.	229
ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНИНА GROEL/GROES И ПРОТЕАЗЫ LON НА АКТИВНОСТЬ LUXR1 И LUXR2 - РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ LUX-ОПЕРОНА <i>ALIIVIBRIO LOGEI</i> ЕКИМОВ Л.В., КОНОПЛЕВА М.Н., ХРУЛЬНОВА С.А., МАНУХОВ И.В.	229

СОДЕРЖАНИЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ АКТИВНОСТИ PRE/TRE-ЭЛЕМЕНТА У <i>DROSOPHILA</i> ЕЛИЗАРЬЕВ П.В., ЕРОХИН М.М., ЧЕТВЕРИНА Д.А., ГЕОРГИЕВ П.Г.	230
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ERK И MEK КИНАЗ В РЕГУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ И МОРФОГЕНЕЗА ПЛАНАРИЙ ЕРМАКОВА О.Н., ЕРМАКОВ А.М., БОНДАРЕНКО С.М.	230
РОЛЬ ГЕНА <i>SUM31</i> ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i> L.) В РАЗВИТИИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КЛУБЕНЬКОВ ЖУКОВ В.А., ЖЕРНАКОВ А.И., ФЕДОРИНА Я.В., БОРИСОВ А.Ю., ТИХОНОВИЧ И.А.	231
КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНОВ <i>GLNR</i> И <i>GLNA</i> ИЗ <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> ЖУРАВЛЕВА Д.Э., ХАЛИТОВА А.В., КАЮМОВ А.Р.	231
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ДИКИХ И КУЛЬТУРНЫХ ВИДОВ ХЛОПЧАТНИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИННЫХ МАРКЕРОВ ЗАКИРОВА Д.В., УРМОНОВ Х., САЛАХУТДИНОВ И.Б., ЭГАМБЕРДИЕВ Ш.Ш., АБДУЛЛАЕВ А.А., АБДУКАРИМОВ А.А.	232
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДЕЛЕЦИИ ГЕНА <i>SWI1</i> НА ПРОЯВЛЕНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ ПРИОННОГО ДЕТЕРМИНАНТА [NSI+] У ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ЗАХАРОВА А.Л., РЫЖОВА Т.А., ГАЛКИН А.П., НИЖНИКОВ А.А.	233
СОЗДАНИЕ ФЕРМЕНТОВ - ЭНДОНУКЛЕАЗ РЕСТРИКЦИИ С ЗАДАННЫМИ СВОЙСТВАМИ ИБРЯШКИНА Е.М.	233
ИЗУЧЕНИИ РОЛИ ФАКТОРОВ СБОРКИ ХРОМАТИНА В РЕГУЛЯЦИИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ПУТЕЙ РЕПАРАЦИИ ДНК У ДРОЗОФИЛЫ ИЛЬИНА Ю.А., ОРЛЯНСКАЯ О.С., КОНЕВ А.Ю.	234
ПОИСК НОВЫХ ПРОМОТОРНЫХ РЕГИОНОВ ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА <i>RUNX1/RUNX1T1</i> ИЛЬЮШЁНОК И.Н., ГРИНЕВ В.В.	235
РОЛЬ БЕЛКА <i>L16</i> И ЕГО МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОНТАКТОВ В ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНО- АКТИВНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ <i>IN VIVO</i> ИСАЕВ А.Б., КОРОБЕЙНИКОВА А.В., ГАРБЕР М.Б., ГОНГАДЗЕ Г.М.	236
ОЧИСТКА БЕЛКА <i>GLNK</i> ИЗ КЛЕТОК РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА <i>ESCHERICHIA COLI</i> BL21 PASK-LBRGLNK ИСХАКОВА З.И., ТАРАСОВ Н.В., КАЮМОВ А.Р.	236
РЕКОНСТРУКЦИЯ ХОЛЕСТЕРИНГИДРОКСИЛАЗНОЙ/ЛИАЗНОЙ ФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ БЫКА В БЫСТРОРАСТУЩИХ МИКОБАКТЕРИЯХ КАРПОВ М.В., СТРИЖОВ Н.И., НОВИКОВА Л.А., ДОНОВА М.В.	237
АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АМИЛОИДОВ <i>IN VIVO</i> МЕТОДАМИ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ КАЧКИН Д.В., РУБЕЛЬ А.А., ЧЕРНОВ Ю.О.	238
ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОРНОМА ПРИ СТРЕССЕ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В КЛЕТКАХ ЛИНИИ JURKAT КЛЕМЕНТЬЕВА Т.С., МЕСИТОВ М.В., МОСКОВЦЕВ А.А., СОКОЛОВСКАЯ А.А., КУБАТИЕВ А.А.	238
АКТИВНОСТЬ ПРОМОТОРА ГЕНА <i>SNAI1</i> В ОПУХОЛЕВЫХ И НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА КОНДРАТЬЕВА Л.Г.	239
АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ <i>ACE</i> , <i>BDNF</i> , <i>ССК</i> , <i>ССК1R</i> , <i>ССК2R</i> , <i>CGRP</i> , <i>DBH</i> , <i>MTDH</i> , <i>MTHFR</i> , <i>MTR</i> , <i>NOS1</i> , <i>NOS2</i> , <i>NOS3</i> С МИГРЕНЬЮ КОНДРАТЬЕВА Н.С., АЗИМОВА Ю.Э., СКОРОБОГАТЫХ К.В., СЕРГЕЕВ А.В., КОКАЕВА З.Г., ТАБЕЕВА Г.Р., КЛИМОВ Е.А.	240

СОДЕРЖАНИЕ

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ГЕНОТРОФОВ ЛЬНА КОРОБАН Н.В., БЕЛЕНИКИН М.С., БОЛЬШЕВА Н.Л., СПЕРАНСКАЯ А.С., ДМИТРИЕВ А.А., КРИНИЦЫНА А.А., ЗЕЛЕНИН А.В., МУРАВЕНКО О.В., КУДРЯВЦЕВА А.В., МЕЛЬНИКОВА Н.В.	240
РОЛЬ БЕЛКА L30 В ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНО-АКТИВНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ <i>IN VIVO</i> КОРОБЕЙНИКОВА А.В., ПАШИНА Л.С., ГАРБЕР М.Б., ГОНГАДЗЕ Г.М.	241
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА КРИСТАЛЛОВ ЛАККАЗЫ ИЗ <i>STREPTOMYCES GRISEOFLOAVUS</i> AC-993 КОСТАРЕВА О.С., ТРУБИЦИНА Л.И., ГАБДУЛХАКОВ А.Г., ЛИСОВ А.В., ГАРБЕР М.Б., ТИЩЕНКО С.В.	242
МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРЁХ ПОПУЛЯЦИЙ МЕДУЗ <i>AURELIA AURITA</i> КОТОВА А.В., АДОНИН Л.С.	242
ВЫБОР СТАРТОВОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНОГО ЗАМЕЩЕНИЯ В УСЛОВИЯХ СОВЕРШЕННОГО ТВИННИНГА КРИСТАЛЛА КРАВЧЕНКО О.В., НИКОНОВ О.С., НИКОНОВ С.В.	243
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i> L.) КРЮКОВ А.А., ЖУКОВ В.А., ТИХОНОВИЧ И.А.	244
ГЕНОТИПИРОВАНИЕ БИОПТАТОВ ЭМБРИОНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛНОГЕНОМНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ КУДИНА Е.П.	244
РОЛЬ В-ЛИМФОЦИТАРНОГО ШАПЕРОНА FCRLA В КОНТРОЛЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В-ЛИМФОЦИТОВ И ПРОДУКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КУЗНЕЦОВА В.В.	245
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДЕСТАБИЛАЗЫ-2 МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ (<i>HIRUDO MEDICINALIS</i>) В РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАХ ЭКСПРЕССИИ КУРДЮМОВ А.С., МАНУВЕРА В.А., ЛАЗАРЕВ В.Н.	246
ИССЛЕДОВАНИЕ НУКЛЕОТИД- И РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ БЕЛКА ROP ИЗ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ЛЕКОНЦЕВА Н.В., МУРИНА В.Н., ГАРБЕР М.Б., НИКОНОВ С.В., НИКУЛИН А.Д.	246
МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ ТЕПЛОВОМ ШОКОМ ДВУЦЕПОЧЕЧНЫХ РАЗРЫВОВ ДНК ЛУЖИН А.В., КАНТИДЗЕ О.Л., ВЕЛИЧКО А.К.	247
ДЕТЕКЦИЯ АКТИВНЫХ ПРОМОТОРОВ СРЕДИ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОМНЫХ БИБЛИОТЕК ЛЮБИМОВА К.А., ДИДЫЧ Д.А., КОТОВА Е.С., АКОПОВ С.Б., НИКОЛАЕВ Л.Г., СВЕРДЛОВ Е.Д.	247
ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАБОТЫ КОАКТИВАТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ПРОЦЕССЕ АКТИВАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ МАЗИНА М.Ю., ВОРОБЬЕВА Н.Е.	248
МАЛАЯ РНК SARZ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РЕГУЛЯТОР ПУЛА МРНК ГЕНОВ RPOS, MALK И MALM В <i>E. COLI</i> МАРКЕЛОВА Н.Ю., СУХАРИЧЕВА Н.А., ОЗОЛИНЬ О.Н., МАСУЛИС И.С.	249
ПОИСК САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ С ДНК РЕГУЛЯТОРНОГО БЕЛКА СИСТЕМЫ КВОРУМА <i>PESTOBACTERIUM</i> <i>ATROSEPTICUM</i> МИРОНЫЧЕВА А.А., ШЛЫКОВА Л.В., ГОГОЛЕВА Н.Е., ГОГОЛЕВ Ю.В.	250
ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ БАКТЕРИЙ <i>VACILLUS</i> <i>PUMILUS</i> 3-19 МИТРОФАНОВА О.С., ТОЙМЕНЦЕВА А.А., ШАРИПОВА М.Р.	250

СОДЕРЖАНИЕ

КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛНОРАЗМЕРНОГО АРХЕЙНОГО РИБОСОМНОГО БЕЛКА L11 МИТРОШИН И.В., ГАБДУЛХАКОВ А.Г., ГАРБЕР М.Б.	251
ПОЛУЧЕНИЕ SMAR2 БЕЛКОВ ИЗ <i>METHANOCOCCUS VANNIELII</i> И <i>SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS</i> МИХАЙЛИНА А.О., ЛЕКОНЦЕВА Н.В., НИКОНОВА Е.Ю., ТИЩЕНКО С.В., НИКУЛИН А.Д.	252
РОЛЬ КЛЕТОЧНОГО ФЕРМЕНТА ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПЕРЕНОСЕ ПОЛИГЛУТАМИНОВЫХ ПАТОЛОГИЙ МИХАЙЛОВА Е.Р., ЛАЗАРЕВ В.Ф., НИКОТИНА А.Д., МАРГУЛМС Б.А., ГУЖОВА И.В.	252
МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНУЮ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ БЕЛКА HFQ МУРИНА В.Н., ЛЕКОНЦЕВА Н.В., МЕЛЬНИК Б.С., ФИЛИМОНОВ В.В., МАРЧЕНКОВ В.В., ГАРБЕР М.Б., НИКОНОВ С.В., НИКУЛИН А.Д.	253
ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ РИБОНУКЛЕАЗЫ <i>BACILLUS PUMILUS</i> НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИТОХОНДРИЙ РАКОВЫХ КЛЕТОК МУРТАЗИНА Р.Р., ЗАКИРОВА Я.Н., ЗЕЛЕНИХИН П.В.	254
ПОЛУЧЕНИЕ ОЧИЩЕННОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА МЕТОДАМИ ИОНООБМЕННОЙ И АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ МУСАХМЕТОВ А.С., УРГАЛИЕВ Ж.Ш., ХАСЕНОВ Б.Б.	254
КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА САХАРОЗО-6-ФОСФАТ ГЛИКОЗИЛАЗЫ ИЗ <i>BACILLUS MOJAVENSIS</i> В ВЕКТОР PGP382 МУХАМЕТЗЯНОВА С.Р., ХОЛЯВКА М.Г., КАЮМОВ А.Р.	255
ПРОТЕОМНЫЕ СКРИНИНГИ АМИЛОИД-ФОРМИРУЮЩИХ БЕЛКОВ У ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ НИЖНИКОВ А.А., АНТОНЕЦ К.С., РЫЖОВА Т.А., ГАЛКИН А.П.	256
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ GBA АССОЦИИРОВАННОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА НИКОЛАЕВ М.А., НУЖНЫЙ Е.П., ЕМЕЛЬЯНОВ А.К., УСЕНКО Т.С., ЯКИМОВСКИЙ А.Ф., ЗАХАРОВА Е.Ю., ПЧЕЛИНА С.Н.	256
ЦИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ, ВЛИЯЮЩИХ НА АГРЕГАЦИЮ ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ НИКОТИНА А.Д., ЛАЗАРЕВ В.Ф., ГУЖОВА И.В., МАРГУЛИС Б.А.	257
ПОЛУЧЕНИЕ ФРАКЦИИ ГЕНОМНОЙ ДНК ДЛЯ ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ, ОБОГАЩЕННОЙ БЕЛОК-КОДИРУЮЩИМИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ ГЕНОВ НОВАКОВСКАЯ А.П., УВАШОВ А.О., ТАГИМАНОВА Д.С., АБДРАШЕВА К.К., КУПЕШЕВ Ж.С., ХАПИЛИНА О.Н., КАЛЕНДАРЬ Р.Н.	258
TRAR (TRNA-ASSOCIATED REPEATS) – КОРОТКИЕ ПОВТОРЫ ДНК С НЕИЗВЕСТНОЙ ФУНКЦИЕЙ НОВОЛАЕВ Т.И., ОСТЕРМАН И.А.	258
ГИПЕРПРОДУКЦИЯ ПРОТЕИНАЗЫ HTRA ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК <i>BACILLUS SUBTILIS</i> К СТРЕССАМ НУРЕЕВА А.А., ШАРАФУТДИНОВ И.С., ЧЕРНОВА Л.С., КАЮМОВ А.Р.	259
УДОБНЫЙ СТРУКТУРНЫЙ КАРКАС ДЛЯ БЕЛКОВОЙ ИНЖЕНЕРИИ ОПАРИН П.Б., БЕРКУТ А.А., ВАСИЛЕВСКИЙ А.А.	260
ПОИСК БЕЛКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В КИНЕТОХОР-ЗАВИСИМОМ РОСТЕ МИКРОТРУБОЧЕК У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ПАВЛОВА Г.А., МУНЗАРОВА А.Ф., ПОПОВА Ю.В., РАЗУВАЕВА А.В.	260
ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ МОДИФИКАЦИИ И ТИПА CFR 9I ПАЛУТИНА О.А., НАГОРНЫХ М.О.	261

СОДЕРЖАНИЕ

ОРФАНОВЫЙ РЕЦЕПТОР RORALPHA И ЯДЕРНЫЙ РЕЦЕПТОР PPARGAMMA КАК РЕГУЛЯТОРЫ ОБМЕНА ХОЛЕСТЕРИНА В ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПАНТЕЛЕЕВА А.А., СЕМЕНОВА И.А., МИРОШНИКОВА В.В., УСЕНКО Т.С., ДЕМИНА Е.П., НИКОЛАЕВ М.А., БАЖЕНОВА Е.А., БЕРКОВИЧ О.А., БАРАНОВА Е.И., ПЧЕЛИНА С.Н.....	262
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МАЛЫХ ДОЗ ФОРМАЛЬДЕГИДА, ТОЛУОЛА И ТХДД НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ПЕРЕГУДОВА Д.О., ПЛЮСНИНА Е.Н., МОСКАЛЕВ А.А.	262
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ОКСИТОЦИНОВОГО (OXTR, RS53576) И АНДРОГЕНОВОГО (AR, CAG-ПОВТОРЫ) РЕЦЕПТОРОВ У МУЖЧИН АФРИКАНСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ХАДЗА И ДАТОГА ПЕТРОСЯН Н.С., СУХОДОЛЬСКАЯ Е.М., ШИБАЛЕВ Д.В., КУТУЗОВА Н.М., БУТОВСКАЯ М.Л., ВАСИЛЬЕВ В.А.....	263
ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В CRE-КАРМАНЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ НА РАЗНЫЕ СТАДИИ ТРАНСКРИПЦИИ ПЕТУШКОВ И.В., ПУПОВ Д.В., БАСС И.А., КУЛЬБАЧИНСКИЙ А.В.....	264
ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ИЗОФОРМ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ OCT-1 ПОРЦЕВА Т.Н., БРЕЧАЛОВ А.В.	264
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОВ NCR-ПЕПТИДОВ У ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i> L.) ПРАХОВА М.С., СУЛИМА А.С., ЖУКОВ В.А., ТИХОНОВИЧ И.А.	265
ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ НАЛИЧИЕМ СУБСТРАТА В САЙТЕ СВЯЗЫВАНИЯ И КОНФОРМАЦИЕЙ ПЕТЛИ L11 УРИДИН-ФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ <i>VIBRIO CHOLERAE</i> ПРОКОФЬЕВ И.И., ЛАШКОВ А.А., ГАБДУЛХАКОВ А.Г., МИХАЙЛОВ А.М.....	266
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКА GLNR ИЗ <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> САЕТГАРАЕВА А.А., ЖУРАВЛЕВА Д.Э., КАЮМОВ А.Р.	266
РОЛЬ ЦИНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО САЙТА В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ РЕГУЛЯТОРА FUR В <i>CEREUS</i> САЛЯМОВ В.И., ШАДРИН А.М., СОЛОНИН А.С.....	267
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВАРИАНТА R219K ГЕНА AVCA1 НА ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР ПЛАЗМЫ КРОВИ И РИСК РАЗВИТИЯ ОЖИРЕНИЯ СЕМЕНОВА И.А., ПАНТЕЛЕЕВА А.А., МИРОШНИКОВА В.В., БРОВИН Д.Л., БАЖЕНОВА Е.А., БАРАНОВА Е.И., ПЧЕЛИНА С.Н.	268
ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ НУКЛЕОПРОТЕИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СЕРДЮКОВ Д.С.	268
ВЛИЯНИЕ ОНКОГЕННОЙ МУТАЦИИ JAK2 V617F, СВЯЗАННОЙ С РАЗВИТИЕМ МИЕЛОФИБРОЗА, НА МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАКРОФАГОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В СРЕДЕ С ТРОМБОЦИТАРНЫМ ЛИЗАТОМ СИЛЮТИНА А.А., ЖУК С.В., БУТЫЛИН П.А., ЗАРИЦКИЙ А.Ю.....	269
СБЛИЖЕННЫЕ АЛЛЕЛИ ГЕНОВ IGH И C-MYC - ПАРТНЕРОВ ПО ЛЕЙКОЗОГЕННЫМ ТРАНСЛОКАЦИЯМ-ПРЕИМУЩЕСТВЕННО РЕЛОКАЛИЗУЮТСЯ В ПЕРИНУКЛЕОЛЯРНОЕ ПРОСТРАНСТВО ЯДРА В ХОДЕ СОЗРЕВАНИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ СКЛЯР И.В.	270
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭПОКСИАЛКОГОЛЬСИНТАЗЫ CSEAS ОГУРЦА (<i>CUCUMIS SATIVUS</i>) СМИРНОВА Е.О., ТОПОРКОВА Я.Ю., МУХТАРОВА Л.Ш., ГОГОЛЕВ Ю.В., ГРЕЧКИН А.Н.	271

СОДЕРЖАНИЕ

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА NETO2, АССОЦИИРОВАННОГО С РАЗВИТИЕМ ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫХ ПАТОЛОГИЙ СНЕЖКИНА А.В., ЖИКРИВЕЦКАЯ С.О., МОСКАЛЕВ А.А.	271
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНВАЗИИ <i>L. MONOCYTOGENES</i> В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЗАМЕН В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ИНТЕРНАЛИНОВ СОБЯНИН К.А., ЕРМОЛАЕВА С.А., АДГАМОВ Р.Р., ГИНЦБУРГ А.Л.	272
ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ SLAMF9-РЕЦЕПТОРНОГО КОМПЛЕКСА ЧЕЛОВЕКА СОКРАТЯН А.М., БАРАНОВ К.О., ГУСЕЛЬНИКОВ С.В., ТАРАНИН А.В.	273
ПОЛИМОРФИЗМ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНОМАХ ПАРТЕНИТ <i>HIMASTHLA ELONGATA</i> СОЛОВЬЕВА А.И., ГАЛАКТИОНОВ Н.К., ПОДГОРНАЯ О.И.	273
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА. ОПТИМИЗАЦИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИНИЙ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА И РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ПРОТОЧНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СОРТИРОВКИ КЛЕТОК НА ОСНОВАНИИ ИХ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА (ММР) СТАРОСТИНА И.Г., ИВАНОВА В.В., РИЗВАНОВ А.А.	274
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС БЕЛКА P53 В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МЫШИ СУВОРОВА И.И., ГРИГОРАШ Б.Б., ПОСПЕЛОВ В.А.	275
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА <i>SUM2</i> ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i> L.), ОПРЕДЕЛЯЮЩЕГО СПЕЦИФИЧНОСТЬ СИМБИОЗА С КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ СУЛИМА А.С., ЖУКОВ В.А., БОРИСОВ А.Ю.	275
ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИИ НА НУКЛЕОСОМНОЙ ДНК МЕТОДОМ SPFRET СУЛТАНОВ Д.Ч., ЧЕРТКОВ О.В.	276
КАРТИРОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СТАРТОВ ТРАНСКРИПЦИИ В ОПЕРОНАХ, КОДИРУЮЩИХ ГЕНЫ АВС-ТРАНСПОРТЕРОВ <i>E. COLI</i> . ВНУТРИВИДОВЫЕ И МЕЖВИДОВЫЕ ПАРАЛЛЕЛИ СУХАРИЧЕВА Н.А., МАРКЕЛОВА Н.Ю., ОЗОЛИНЬ О.Н.	277
КЛОНИРОВАНИЕ И ОЧИСТКА БЕЛКА GLNK МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ <i>LACTOBACILLUS BREVIS</i> ТАРАСОВ Н.В., КАЮМОВ А.Р., ИСХАКОВА З.И.	277
ВВЕДЕНИЕ В ГЕНОМЫ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА, ПОВЫШАЮЩЕГО УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАМОРОЗКАМ ТИМОШЕНКО А.А., ШУЛЬГА О.А., ГАПОНЕНКО А.К.	278
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИГЕНА GP51 ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПОМОЩЬЮ ЛИНИЙ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ ТУРГИМБАЕВА А.М., ХАСЕНОВ Б.Б.	279
СРАВНЕНИЕ АКТИВНОСТЕЙ ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧНОГО ПРОМОТОРА И ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ С ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ В СТРОМЕ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТЮЛЬКИНА Д.В.	279
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПШЕНИЦЫ УВАШОВ А.О., ТАГИМАНОВА Д.С., НОВАКОВСКАЯ А.П., ХАПИЛИНА О.Н., КУПЕШЕВ Ж.С., АБДРАШЕВА К.К.	280
РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА PIF1 В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SDH2-3 СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ФИТОХРОМНОЙ СИСТЕМОЙ ПОКУСИНА Т.А., КАРАБУТОВА Л.А., ЛАПТЕВА А.А., ФЕДОРИН Д.Н., ЕПРИНЦЕВ А.Т.	281

СОДЕРЖАНИЕ

ПОИСК МУТАЦИЙ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i> L.) НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ФЕДОРИНА Я. В., ЖУКОВ В. А., ШТАРК О.Ю., БОРИСОВ А.Ю., ТИХОНОВИЧ И.А.	281
ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБНОСТИ ИНСУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ ZIPIC, PITA, ZW5 <i>D.MELANOGASTER</i> ОБЕСПЕЧИВАТЬ ДИСТАНЦИОННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЕДОТОВА А.А., КЫРЧАНОВА О.В., ГЕОРГИЕВ П.Г.	282
ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛАТА НАТРИЯ НА СВЯЗЫВАНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SGPR С РЕГУЛЯТОРНОЙ ОБЛАСТЬЮ ОПЕРОНА ДЕГРАДАЦИИ САЛИЦИЛАТА ФИЛАТОВА И.Ю., БЯКИНА Е.Р., МУЗАФАРОВ Е.Н., ЗАХАРОВА М.В.	283
РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК ПРИ ОТВЕТЕ НА ТЕПЛОВОЙ ШОК У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ФУНИКОВ С.Ю., РЯЗАНСКИЙ С.С., КАНАПИН А., ЗЕЛЕНЦОВА Е.С., ЕВГЕНЬЕВ М.Б., ЗАЦЕПИНА О.Г.	283
СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ FBLN5 И LOXL1 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПРОЛАПСА ТАЗОВЫХ ОРГАНОВ ХАДЖИЕВА М.Б.	284
РОЛЬ РОМБОИДНОЙ ПРОТЕАЗЫ В СЕКРЕЦИИ БЕЛКОВ «ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА» <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> ЧАЛЕНКО Я.М., НИКИФОРОВА А.Л., СУРИН А.К., ЕРМОЛАВЕВА С.А.	285
МОДЕЛЬ АКТИВАЦИИ PH ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РЕЦЕПТОРА IRR (INSULIN RECEPTOR-RELATED RECEPTOR) ЧАЧИНА Н.А., СЕРОВА О.В., ДЕЕВ И.Е., ПЕТРЕНКО А.Г.	285
НОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ ПАРТНЕРЫ КОМПЛЕКСА ДОЗОВОЙ КОМПЕНСАЦИИ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ЧЕРКАСОВА Е.А., БАБОША В.А., ГЕОРГИЕВ П.Г., МАКСИМЕНКО О.Г.	286
ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ У СЕГОЛЕТОК ИСКУССТВЕННО ВЫРАЩИВАЕМОЙ ФОРЕЛИ (<i>PARASALMO MYKISS</i> WALB.): ВЗАИМОСВЯЗЬ С ТЕМПАМИ РОСТА ЧУРОВА М.В., МЕЩЕРЯКОВА О.В., АЛЕКСАНДРОВА А.М., НЕМОВА Н.Н.	287
БЕЛОК EAST ВЛИЯЕТ НА ФОРМИРОВАНИЕ ВНУТРИЯДЕРНЫХ ИНСУЛЯТОРНЫХ ТЕЛЕЦ И РЕГУЛИРУЕТ СВЯЗЫВАНИЕ БЕЛКА CP190 С ХРОМАТИНОМ У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ШАМСУТДИНОВ М.Ф.	287
ДИНАМИЧЕСКИЙ ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЕТЕРОХРОМАТИНА ПРИ ЭФФЕКТЕ ПОЛОЖЕНИЯ ШАЦКИХ А.С., ЛАВРОВ С.А., ГВОЗДЕВ В.А.	288
ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ NOTCH1 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ (ХЛЛ) ШЕВЧУК А.С., РУМЯНЦЕВ А.М., СТРУГОВ В.В., СТАДНИК Е.А., ЗАРИЦКИЙ А.Ю.	289
РОЛЬ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО ЩАЮК А.Н., ШЕПЕТЬКО М.Н., МИХАЛЕНКО Е.П., ЧЕБОТАРЕВА Н.В., ПИСАРЧИК С.Н., ПРОХОРОВ А.В., КРУПНОВА Э.В.	290
ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ ПОЛИМОРФНОГО АЛЛЕЛЯ GLY482SER ГЕНА PGC-1ALPHA У ЛИЦ, ИМЕЮЩИХ ДИАГНОЗ «ИНСУЛИННЕЗАВИСИМЫЙ ДИАБЕТ» ЮРЬЕВА Б.В., НУРБЕКОВ М.К.	290
СЕКЦИЯ «ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОЭКОЛОГИЯ» ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ НА СВОЙСТВА ЧЕРНОЗЕМНЫХ И СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ ПРАВОБЕРЕЖНОЙ ЛЕСОСТЕПИ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ АВАКОВ М.С.	292

СОДЕРЖАНИЕ

АКТИВНОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО ПОГРЕБЕННЫХ И СОВРЕМЕННЫХ КАШТАНОВЫХ ПОЧВ СУХОСТЕПНОЙ ЗОНЫ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ АЛЕКСЕЕВ А.М.	293
ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССА ПРОБОПОДГОТОВКИ НА ПОДВИЖНОСТЬ СВИНЦА В ПОЧВЕ БАУЭР Т.В., МИНКИНА Т.М., КОЗЛОВА В.Р.	293
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПАУ В ПОЧВАХ ТЕХНОГЕННОЙ ТЕРРИТОРИИ НОВОЧЕРКАССКОЙ ГРЭС МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ БОЛОТОВА О.В., СУШКОВА С.Н., МИНКИНА Т.М.	294
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ПОЧВ ЖЕЛЕЗОВА А.Д., КУТОВАЯ О.В., ТХАКАХОВА А.К.	295
ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ НА СВОЙСТВА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ УГЛЕВОДОРОДАМИ НЕФТИ, В ХОДЕ ЕЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗИННАТШИНА Л.В.	296
ПОЧВЕННЫЕ ЭКОСИСТЕМЫ СЕВЕРНЫХ ЛУГОВ И АГРОЦЕНОЗОВ: ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НА ОСНОВЕ СООБЩЕСТВ ПОЧВЕННЫХ НЕМАТОД КАЛИНКИНА Д.С., МАТВЕЕВА Е.М., СУЩУК А.А.	296
ВЛИЯНИЕ ФОРМЫ АЗОТА И С/Н НА МИНЕРАЛИЗАЦИЮ И ТРАНСФОРМАЦИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ КУКУРУЗЫ КВИТКИНА А.К.	297
ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОТЫ ПОСТАГРОГЕННОЙ ПОЧВЫ НА КРАЙНЕМ СЕВЕРЕ КОВАЛЕВА В.А., ХОЛОПОВ Ю.В.	298
ВЛИЯНИЕ БИОУГЛЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ И АГРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ КОЛЬЦОВА Т.Г., СУНГАТУЛЛИНА Л.М., АНДРЕЕВА А.А.	299
ВЛИЯНИЕ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА МИКОРИЗАЦИЮ КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ИМИТАЦИИ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ КУРАМШИНА З.М., ХАЙРУЛЛИН Р.М.	299
МЕТОДИКА СОЗДАНИЯ СРЕДНЕМАСШТАБНОЙ ПОЧВЕННОЙ КАРТЫ ВЫБОРГСКОГО РАЙОНА КАРЕЛЬСКОГО ПЕРЕШЕЙКА ЛАЗАРЕВА М.А.	300
ИЗМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АГРОТЕМНО-СЕРОЙ ПОЧВЫ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ СУЛЬФАТОМ КАДМИЯ МИТРАКОВА Н.В., ЕРЁМЧЕНКО О.З.	301
ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ НА РАЗДЕЛЬНОЕ И КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ АЛЮМИНИЯ И КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕГО УДОБРЕНИЯ СИЛИПЛАНТ НЕБЫШЕНКОВА Н.С., АМОСОВА Н.В.	302
ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВАХ ПРИМОРСКИХ КОС ПОБЕРЕЖЬЯ ТАГАНРОГСКОГО ЗАЛИВА АЗОВСКОГО МОРЯ НЕВИДОМСКАЯ Д.Г., КУКСОВА Е.Г.	302
ПОЧВЕННО-АРХЕОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МОГИЛЬНИКА «ЕКАТЕРИНОВСКИЙ МЫС» САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ ОВЧИННИКОВ А.Ю.	303

СОДЕРЖАНИЕ

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕРЕНИЯ СУБСТРАТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ДЫХАНИЯ ДЛЯ РАСЧЕТА ПОЧВЕННОЙ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ РОГОВАЯ С.В., ИВАЩЕНКО К.В.	304
СТРУКТУРНО-МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТАЕЖНЫХ ПОЛУГИДРОМОРФНЫХ ПОЧВ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ ХОЛОПОВ Ю.В.	305
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПОГОДНЫХ ЯВЛЕНИЙ НА ЭМИССИЮ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА ИЗ ПОЧВ: РЕЗУЛЬТАТ ИМИТАЦИОННОГО ПОЛЕВОГО ЭКСПЕРИМЕНТА ХОРОШАЕВ Д.А., ЛОПЕС ДЕ ГЕРЕНЮ В.О., КУРГАНОВА И.Н., БЛАГОДАТСКАЯ Е.В.	305
СОДЕРЖАНИЕ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ FE И AL В ПОЧВАХ ВЕРХОВЫХ БОЛОТ ПСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ШИПКОВА Г.В.	306
СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И БИОМЕДИЦИНА» MODEL STUDIES OF HEMODYNAMICS OF CARDIOVASCULAR SYSTEM FOR RESEARCH OF CEREBRAL ANEURYSM GENESIS FROLOV S.V., SIDNEEV S.V., LISHCHUK V.A., LIEPSCH D., BALASSO A.	308
DEVELOPMENT OF A MULTICELLULAR MAGNETIC 3D SPHEROIDS FROM DIFFERENT CELL LINES ROZHINA E.V., NAUMENKO E.A., TARASOVA E.Y., DANILUSHKINA A.A., FAKHRULLIN R.F.	308
MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY OF THE ISCHEMIC BRAIN UNDER LITHIUM TREATMENT INDICATES CHANGES IN METABOLITES SILACHEV D.N., GULYAEV M.V., PEVZNER I.B., ZOROVA L.D., PLOTNIKOV E.Y., ZOROV D.B.	309
EVALUATION OF TOXIC EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES TARASOVA E.Y., NAUMENKO E.A., ROZHINA E.V., FACHRULLIN R.F.	309
ВЛИЯНИЕ «ГОРНОЙ БОЛЕЗНИ» НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЫШЛЕНИЯ АККИЗОВ А.Ю.	310
УЧАСТИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ИЗМЕНЕНИИ АКТИВНОСТИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ САМОК КРЫС В МОДЕЛИ ПОСТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА АКУЛОВА В.К., ТИХОМИРОВА В.С.	311
ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ МАТЕРЕЙ НА СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ АРТЮХОВА О.А.	311
АССОЦИАЦИЯ С ПАНИЧЕСКИМ РАССТРОЙСТВОМ КОМПЛЕКСНЫХ ГАПЛОТИПОВ ГЕНОВ CCK, CCK2R, CCK1R, MAOA, COMT, DBH, HTR1A, TRH1, SERT, PDE4B, BDNF АФОНЧИКОВА Е.В., НАУМОВА Е.А., КОНДРАТЬЕВА Н.С., АНУЧИНА А.А., КОКАЕВА З.Г., АЗИМОВА Ю.Э., РУДЬКО О.И., КЛИМОВ Е.А.	312
СВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ ИММУНИТЕТА С СОСТОЯНИЕМ КРЫЛОВОГО ДИМОРФИЗМА У КЛОПА-СОЛДАТИКА <i>PYRRHOCORIS APTERUS</i> БАЛАШОВ С.В.	313
ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ: МУЛЬТИФАКТОРНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ БЕЛЕНИКИН М.С.	314
ВЛИЯНИЕ IMD-0354, БЛОКАТОРА NF-KARAB-СИГНАЛИНГА, НА ЭКСПРЕССИЮ ЕЗ-ЛИГАЗ И РАЗВИТИЕ АТРОФИИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКЕ БЕЛОВА С.П., НЕМИРОВСКАЯ Т.Л.	314

СОДЕРЖАНИЕ

КОМПОЗИТНЫЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛИУРОНОВЫХ КИСЛОТ, ОПТИМИЗИРОВАННЫЕ ПО СОДЕРЖАНИЮ БЕЛКОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА, ЯВЛЯЮТСЯ ПЕРСПЕКТИВНЫМИ БИОСОВМЕСТИМЫМИ МАТЕРИАЛАМИ ДЛЯ НЕЙРОРЕГЕНЕРАЦИИ БЕЛОУСОВ А.С.	315
ФРАГМЕНТ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА АВП(6-9) И ЕГО СТРУКТУРНЫЙ АНАЛОГ УЛУЧШАЮТ ОБУЧЕНИЕ ЖИВОТНЫХ С ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ ПОДКРЕПЛЕНИЕМ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ БЕЛЯКОВА А.С., ВОСКРЕСЕНСКАЯ О.Г., СИНЮШИН А.А., КАМЕНСКИЙ А.А.....	316
ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ АГРЕГАТОВ ТАЙТИНА СЕРДЕЧНОЙ СКЕЛЕТНЫХ И ГЛАДКИХ МЫШЦ ЮРШЕНАС Д.А., БОБЫЛЁВ А.Г., ПОДЛУБНАЯ З.А. ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ИОННЫХ КАНАЛОВ В СТЕЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА ВАСИЛЬЕВА В.Ю., ВАСИЛЬЕВА И.О., ЧУБИНСКИЙ-НАДЕЖДИН В.И.....	317
АНАЛИЗ НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ УМЕРЕННОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЕЙ ПРИ КОМПЕНСАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОКСИИ МОЗГА ВЕТРОВОЙ О.В., РЫБНИКОВА Е.А., ТЮЛЬКОВА Е.И.	318
БЫСТРЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ ПРИ 24-ЧАСОВОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКЕ В M.SOLEUS КРЫСЫ ВИЛЬЧИНСКАЯ Н.А., ЛОМОНОСОВА Ю.Н., ШЕНКМАН Б.С.....	319
ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ РЕСПИРАТОРНОГО ЭПИТЕЛИЯ ТРАХЕИ КРЫСЫ ВОЛКОВА А.Г.	319
ГРУППОВОЕ СОДЕРЖАНИЕ ПРИВОДИТ К ПОДАВЛЕНИЮ ПОЛОВОЙ И ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ САМЦОВ, НО НЕ САМОК <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ГОНЧАРОВА А.А.	320
ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АДРЕНОЦЕПТИВНЫХ СТРУКТУР ФАСТИГИАЛЬНОГО ЯДРА МОЗЖЕЧКА НА ПЕРЕДАЧУ ЕГО МОДУЛИРУЮЩИХ ВЛИЯНИЙ НА ДЫХАНИЕ ГОНЧАРОВА В.С.	321
ДЫХАНИЕ, ТРАНСПОРТ ИОНОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ ОБМЕН В МИТОХОНДРИЯХ МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭПИЛЕПСИИ ГОРБАЧЁВА О.С., БЕЛОСЛУДЦЕВА Н.В., ШИГАЕВА М.И., МИРОНОВА Г.Д.....	321
ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА VI ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ/РЕПЕРFUЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ГОРДЕЕВА А.Е., ШАРАПОВ М.Г., ТЕМНОВ А.А., НОВОСЕЛОВ В.И.....	322
РЕНТГЕНОВСКАЯ ТОМОГРАФИЯ ПОЛИМЕРНЫХ 3-Д СКЭФФОЛДОВ ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ ГОРОДЖА С.Н., СУРМЕНЕВ Р.А.	323
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ СОСТОЯНИЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ МЕТОДОМ КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ ГУБАРЬКОВА Е.В., ДУДЕНКОВА В.В., ТИМОФЕЕВА Л.Б., КИСЕЛЕВА Е.Б., ГЛАДКОВА Н.Д.	324
ВЛИЯНИЕ ИЗОЛЯЦИИ ОТ МАТЕРИ В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЗРОСЛЫХ САМЦОВ КРЫС, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ТЕМПОМ СТАРЕНИЯ ДОЛОДОЕВ А.С.	324
ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В НИСХОДЯЩЕЙ ОБОДОЧНОЙ КИШКЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ЦИТОСТАТИКА ПРОИЗВОДНОГО МАЛЕИМИДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ ЕНА М.С.....	325

СОДЕРЖАНИЕ

ВОЗДЕЙСТВИЕ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО СВЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ 470 НМ, 525 НМ И 635 НМ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК ПЛАНАРИЙ ЕРМАКОВ А.М., СКАВУЛЯК А.Н., МАНОХИН А.А., ХРАМОВ Р.Н.	326
ПРОТИВОЛЕЙКЕМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАЗАХСТАНА ЖАМАНБАЕВА Г.Т., МУРЗАХМЕТОВА М.К., ТУЛЕУХАНОВ С.Т., ДАНИЛЕНКО М.	326
ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У СОТРУДНИКОВ МЧС ЗАПАТРИНА Е.Н., МАЕВСКИЙ Е.И., ПАРАМОНОВА Е.В.	327
О ПРОСТРАНСТВЕННОМ РАСПРОСТРАНЕНИИ СПОНТАННОЙ СИНХРОНИЗАЦИИ СПАЙКОВОЙ АКТИВНОСТИ В ПЛАНАРНЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЯХ С РЕЛАКСАЦИОННОЙ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТЬЮ ЗЕНДРИКОВ Д.К.	328
РОЛЬ КОРТИКОЛИБЕРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА КРЫС В РАЗВИТИИ ПОСТСТРЕССОВЫХ ТРЕВОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ И ИХ КОРРЕКЦИИ ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕМ ЗЕНЬКО М.Ю., РЫБНИКОВА Е.А., ГЛУЩЕНКО Т.С.	328
ОЦЕНКА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ ЖИВОТНЫХ К ПРОХОЖДЕНИЮ ВОДНОГО ЛАБИРИНТА МОРРИСА ИВЛИЕВА А.Л., ПЕТРИЦКАЯ Е.Н.	329
ВЛИЯНИЕ УМСТВЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА СТУДЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ВРЕМЕНИ ИВШИН Д.В., КРАСНИКОВА И.В.	330
ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФРАКЦИОННОГО ЛАЗЕРНОГО ФОТОТЕРМОЛИЗА ДЛЯ ИНИЦИИРОВАНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА КАРАБУТ М.М., КИСЕЛЕВА Е.Б., ФЕЛЬДШТЕЙН Ф.И., БАСКИНА О.С., СНОПОВА Л.Б., ГЛАДКОВА Н.Д.	331
СОПОСТАВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА ЭЭГ И ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАЗВИТИЯ ОТДЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОЛЬНОГО ВНИМАНИЯ КАРПОВ Н.В.	331
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ТИМУСА КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ПИТАНИЯ КЛЮЕВА Ю.Н., АРТАШЯН О.С.	332
ПОЛУЧЕНИЕ МЕГАКАРИОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ИЗ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ EX VIVO КЛЮЧНИКОВ Д.Ю., ТЮМИНА О.В., ЯЗЫКОВА М.Ю., ВОЛЧКОВ С.Е., ТРУСОВА Л.М.	333
ИССЛЕДОВАНИЕ КОРТИКО-ВИСЦЕРАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НА УРОВНЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО КРОВОТОКА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА КОЗИНА В.И., КРАСНИКОВ Г.В.	334
ЛОКАЛИЗАЦИЯ АНОКТАМИНА-1 В ОБОНЯТЕЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ МЫШИ КОЛЕСНИКОВА А.С., БЫСТРОВА М.Ф.	334
БЕЛКИ, УЧАСТВУЮЩИЕ В АКТИВАЦИИ И ПОДДЕРЖАНИИ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО ВХОДА КАЛЬЦИЯ В НЕЙРОНАЛЬНУЮ МОДЕЛЬ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА КОЛОБКОВА Ю.А., ВИГОНТ В.А.	335
НАРУШЕНИЕ ГОМЕОСТАЗА ЖЕЛЕЗА ПРИ РАЗВИТИИ АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛЯ КУПРИЯНОВА Е.С., НАУМОВ А.А., ПОЦЕЛУЕВА М.М.	336
КАЛЬЦИЕВАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ, ИНИЦИИРУЕМАЯ ПУРИНЭРГИЧЕСКИМИ АГОНИСТАМИ В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА КОТОВА П.Д., ФАДЕЕВА Ю.И., АГЕЕВА Л.В., РОГАЧЕВСКАЯ О.А., СЫСОЕВА В.Ю.	337

СОДЕРЖАНИЕ

ВЛИЯНИЕ ОСЛАБЛЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА КРОВЬ И ФЕРМЕНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭМБРИОНОВ <i>G. GALLUS</i> КОЧАРЯН Я.Ю., ЕМЕЛЬЯНОВА М.С., ЛОМАЕВ Г.В.	337
ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ КРАВЧЕНКО П.Н., ЖУЛАЙ Г.А., ЧУРОВ А.В., ОЛЕЙНИК Е.К., БАРЫШЕВА О.Ю., ОЛЕЙНИК В.М., ВЫБАЧ М.В.	338
ИССЛЕДОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХОНДРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ У КРЫС КРЫЛОВ П.А.	339
ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ ВАХТОВЫХ РАБОТНИКОВ, ЗАДЕЙСТВОВАННЫХ ПРИ ОСВОЕНИИ АРКТИЧЕСКИХ ТЕРРИТОРИЙ КУЗЬМИНА Н.А., БОЛОТОВА К.С., ДЕГТЕВА Г.Н.	339
ВЛИЯНИЕ ТРЕМАТОД НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ САМОК <i>LITTORINA SAXATILIS</i> В ЕСТЕСТВЕННЫХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЕШ К.С., КРАВЕЦ П.П.	340
ИССЛЕДОВАНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ЧАСТОТ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ VEGF И PPARG И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ С КВАЛИФИКАЦИЕЙ СПОРТСМЕНОВ ПОЖАРНО-СПАСАТЕЛЬНОГО СПОРТ КУНДАС Л.А., ЖУР К.В., НЕСТЕРЕНКО Е.В., ГОЛОВКОВА И.В., ПИТОМЕЦ С.П., МОССЭ И.Б.	341
НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕШЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ЗАДАЧ В ПРОЦЕССЕ АРОМАКОРРЕКЦИИ КУНДУПЬЯН О.Л., КУНДУПЬЯН Ю.Л., БИБОВ М.Ю.	342
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОЧАСТИЦ МЕДИ ПО ЭКСПРЕССИИ МАРКЁРОВ АПОПТОЗА СИЗОВА Е.А., ЛЕБЕДЕВ С.В.	342
ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СОЗРЕВАНИЕ И ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ООЦИТОВ СВИНЕЙ <i>IN VITRO</i> ЛОПУХОВ А.В., СИНГИНА Г.Н.	343
НИЗКОЧАСТОТНЫЕ ВОКАЛИЗАЦИИ ДОМОВОЙ МЫШИ (<i>MUS MUSCULUS</i>) ЛУПАНОВА А.С., ЕГОРОВА М.А.	344
СОЗДАНИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИСПРАВЛЕНИЯ МУТАЦИИ <i>DI</i> В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ КРЫС ЛИНИИ <i>BRATTLEBORO</i> МАЛАНХАНОВА Т.Б., НЕМУДРЫЙ А.А., ВАСЬКОВА Е.А., МЕДВЕДЕВ С.П.	344
ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ СТАНДАРТИЗОВАННЫХ ПОЛИУРОНОВЫХ КИСЛОТ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОСОВМЕСТИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ БИОИНЖЕНЕРИИ МАЛЫКИН Г.В., ШВЕД Н.А., КУЗНЕЦОВ В.Д.	345
ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСПОРТА БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ЧЕРЕЗ МОНОСЛОЙ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ЛИНИИ EA.HY926 МАЛЬЦЕВА О.Н., БОРОДИНА Д.В., ТАНЯНСКИЙ Д.А.	346
СВЯЗЬ УРОВНЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ МАРТЫНОВА Е.В., ХАЙБУЛЛИНА С.Ф., АНОХИН В.А., ШАЙХИЕВА Г.С., ВАЛИУЛЛИНА А.Х., РИЗВАНОВ А.А.	346

СОДЕРЖАНИЕ

ВНУТРИКЛЕТОЧНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ РОЛИ K^+ , Ca^{2+} И Na^+ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАНАЛОВ В ФОРМИРОВАНИИ ПЕЙСМЕКЕРНОЙ ОСЦИЛЛЯТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ МАРУТКИНА Е.А., СУХОВ А.Г., ОРЛОВ В.И.	347
РОЛЬ ШАПЕРОНОВ HDJ1, HDJ2 И HSP70 В РОСТЕ И МЕТАСТАЗИРОВАНИИ МОДЕЛЬНОЙ КРЫСИНОЙ ГЛИОМЫ МЕШАЛКИНА Д.А., ШЕВЦОВ М.А., МАРГУЛИС Б.А., ГУЖОВА И.В.	348
ЧАСТОТНО-ЗАВИСИМЫЕ ЭФФЕКТЫ АКУСТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА УРОВНЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО КРОВОТОКА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА МИЛЯЕВ Е.В., КРАСНИКОВ Г.В.	349
СЕРОВОДОРОД УГНЕТАЕТ ВЫЗВАННЫЕ НМДА-ТОКИ ПИРАМИДАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ МИНЬКИНА Е.А., ТИМОНИНА А.А., ЯКОВЛЕВ А.В.	349
АНАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ СИГНАЛЬНОЙ ТРАНСДУКЦИИ И СИНТЕЗ БЕЛКА В ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЕ КРЫСЫ НА РАННИХ СРОКАХ МОДЕЛИРУЕМОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ МИРЗОЕВ Т.М., ТЫГАНОВ С.А.	350
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА В РАЗЛИЧНЫХ ОБОЛОЧКАХ И КОМПЛЕКСА НАНОЧАСТИЦ С ДОКСОРУБИЦИНОМ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ МИРОНОВА Е.А., ДАВЫДОВА Г.А., СЕМКИНА А.С., АБАКУМОВ М.А.	351
КАЛЬЦИЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ПОЛЯ САЗ ГИППОКАМПА В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА МИТАЕВА Я.И., МОЖЕРОВ А.М., МУХИНА И.В.	352
ХАРАКТЕРИСТИКА СВОБОДНОЙ ДНК, ОБНАРУЖЕННОЙ В ВЛАЗМЕ КРОВИ ДОНОРОВ РАЗЛИЧНОГО ПОЛА И ВОЗРАСТА МИТРОШИНА И.Ю., МИТРОШИН И.А.	352
СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ КОРОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ У САМОК ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС МИТЯШОВА О.С.	353
АНАЛИЗ МУТАЦИЙ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОНКОУРОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПО ОСАДКУ МОЧИ МИХАЙЛЕНКО Д.С., ЖИНЖИЛО Т.А., САФРОНОВА Н.Ю., ПЕРЕПЕЧИН Д.В., ГРИГОРЬЕВА М.В., СИВКОВ А.В.	354
АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛХОЛИНЕСТЕРАЗЫ И БУТИРИЛХОЛИНЕСТЕРАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ МОРОЗОВА А.Ю., МИЛЮТИНА Ю.П.	355
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ И БИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ИМПЛАНТАТОВ ИЗ НИКЕЛИДА ТИТАНА С МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ПОКРЫТИЯМИ ПОВЕРХНОСТИ В ОПЫТАХ <i>IN VIVO</i> НАДЕЖДИН С.В., ЗУБАРЕВА Е.В., АФАНАСЬЕВ А.Ю., ШАПОВАЛОВА С.В.	355
ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННЫХ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК НИКОЛАЕВ В.Ю., РОМАНОВА Е.Б., МАСЛОВА Е.А., МАСЛОВА К.Н.	356
ИЗУЧЕНИЕ МАРКЕРОВ СТРЕСС-РЕАКЦИИ ДУБРОВСКИЙ В.Н., НОВОКШОНОВА С.А.	357

СОДЕРЖАНИЕ

ВЛИЯНИЕ ВАЗОАКТИВНОГО КОСМЕТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА «КАПИЛАР» НА ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КОЖИ ОСИПОВА А.А.	358
МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ГАЛЕКТИНУ-3 ОТКРОЮТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ МНОГИХ ОПАСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАВЛОВА Е.В.	358
РЕОБАЗА НЕЙРОНА К ИМПУЛЬСУ КВАЗИ-СИНАПТИЧЕСКОЙ ПРОВОДИМОСТИ ПАРАСКЕВОВ А.В.	359
ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОГО УРОВНЯ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ ТЕПЛООВОГО ШОКА 90 У САМОК МЫШЕЙ НА РАЗВИТИЕ ИХ ПОТОМСТВА В ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ПЕРЕПЕЧЕНОВА Н.А., КЛОКОВА К.В., ЛОБАНОВ А.В.	359
ПРАВОВЫЕ АСПЕКТЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ ПЕРЕПЕЧИН Д.В., ПЕРЕПЕЧИНА И.О., СМИРНОВА Д.В.	360
ЭКСПРЕССИЯ СУБЪЕДИНИЦЫ A1 ГАМКА РЕЦЕПТОРА В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ, ВЫЗВАННОЙ КАИНАТОМ ПЕРШИНА Е.В., КАПРАЛОВА М.В., АРХИПОВ В.И.	361
ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕКАНИЯ НИТРИТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС НА ФОНЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫХ ИНФУЗИЙ ТИМОГЕНА ПЕТЕНКОВА А.А., КОВАЛЕНКО Р.И.	361
РОЛЬ ФАКТОРА XIIIА И ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В КОНТРАКЦИИ СГУСТКА КРОВИ ПЕШКОВА А.Д., ЛОЖКИН А.П.	362
ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,3 – ТРИАЗОЛОВ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ПОЗДИНА В.А., УЛИТКО М.В., МОЖЕРИН Ю.Ю., КАЛИНИНА Т.А., ГЛУХАРЁВА Т.А.	363
ДЕЙСТВИЕ САЛЬВИФОЛИНА НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ СРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ДИАБЕТЕ ПОЗИЛОВ М.К., АСРАРОВ М.И., ЭРГАШЕВ Н.А., ЭШБАКОВА К.А.	364
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МИТОХОНДРИЙ В ПОЧКЕ В НОРМЕ И ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ПОПКОВ В.А., ПЛОТНИКОВ Е.Ю., ЗОРОВ Д.Б.	364
ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПОПОВ А.Л., ПОПОВА Н.Р., СЕЛЕЗНЕВА И.И.	365
ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ НУКЛЕОТИДНОГО ПУЛА КЛЕТКИ НА БИОМАРКЕРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА IN VIVO ПОПОВА Н.Р., ПОПОВ А.Л., УСАЧЕВА А.М.	366
ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ЛПС RHODOBACTER CAPSULATUS PG ОТ ИНДУЦИРОВАННОГО ЭНДОТОКСИНАМИ СИНТЕЗА ИНФ-Г СЕРОВ Д.А., РАДЗЮКЕВИЧ Я.В., ЗУБОВА С.В., КАБАНОВ Д.С., ПРОХОРОЕНКО И.Р.	366
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОЧАСТИЦ МЕДИ ПО ЭКСПРЕССИИ МАРКЁРОВ АПОПТОЗА СИЗОВА Е.А., ЛЕБЕДЕВ С.В.	367
ОЦЕНКА НЕЙРОТОКСИЧНЫХ СВОЙСТВ ФУЛЛЕРЕНОЛОВ C60 И C70 НА <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> СЛОБОДИНА А.Д., СЛЕПНЕВА Е.Э., БОЛЬШАКОВА О.И., САРАНЦЕВА С.В.	368

СОДЕРЖАНИЕ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТЕКАЛЬНОЙ И ГРАНУЛЕЗНОЙ ТКАНЕЙ В ПРОЦЕССЕ ПРОДУКЦИИ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ ПРЕОУЛЯТОРНЫМИ ФОЛЛИКУЛАМИ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ СМЕКАЛОВА А.А., ЛЕБЕДЕВА И.Ю.....	368
НОВЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУНОТОКСИН НА ОСНОВЕ ПСЕВДОМОНАДНОГО ЭКЗОТОКСИНА А: ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОКОЛОВА Е.А., ЗДОБНОВА Т.А., СТРЕМОВСКИЙ О.А., БАЛАЛАЕВА И.В., ДЕЕВ С.М.....	369
СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ТЕСКАЛЦИНА СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА ПРИВОДИТ К ПОВЫШЕНИЮ СЕКРЕЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНА 6 СОЛОВЬЕВА В.В., КОЛОБЫНИНА К.Г., ГОМЗИКОВА М.О., ТАЗЕТДИНОВА Л.Г., МАРТЫНОВА Е.В., ХАЙБУЛЛИНА С.Ф., СЛЕПАК В.З., РИЗВАНОВ А.А.....	370
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕХАНИЗМА АДАПТАЦИИ РЕПТИЛИЙ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ СОЛОМАЙКИН Е.И., РОМАНОВА Е.Б., НИКОЛАЕВ В.Ю.	371
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА К ЦИТОТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ПАКЛИТАКСЕЛА И ЦИСПЛАТИНА ТАЗЕТДИНОВА Л.Г., СОЛОВЬЕВА В.В., РИЗВАНОВ А.А.....	371
РОЛЬ БАЛАНСА АКТИВНОСТИ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ A2A- И A1-ТИПА В МЕХАНИЗМЕ РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ МЕДИАТОРА В НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ ТАРАСОВА Е.О., МИТЕВА А.С., ГАЙДУКОВ А.Е.....	372
РЕГУЛЯЦИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОЖИ В ПОДРОСТКОВОМ И ЮНОШЕСКОМ ВОЗРАСТЕ ТВЕРИТИНА Е.С.....	373
НМДА-ОПОСРЕДОВАННЫЕ ЭФФЕКТЫ ГОМОЦИСТЕИНА НА СЕТЕВУЮ АКТИВНОСТЬ ГИППОКАМПА У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ТИМОНИНА А.А., МИНЬКИНА Е.А., ХАЙРУТДИНОВА Р.Р.	374
ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО ДИСБАЛАНСА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПИГМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЛИЧИНОК ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ <i>XENOPUS LAEVIS</i> ТОЧИЛО У.А., МОЛЧАНОВ А.Ю.	374
СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСТРУМЕНТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ВНЕСЕНИЯ МУТАЦИЙ В ГЕН SOD1, НА ОСНОВЕ СИСТЕМ TALENS И CRISPR/CAS9 УСТЬЯНЦЕВА Е.И., ВАЛЕТДИНОВА К.Р., МЕДВЕДЕВ С.П.	375
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ ТЕРАПИИ НА ПАМЯТЬ И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА КРЫС ПРИ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОМ РАССТРОЙСТВЕ, СФОРМИРОВАННОМ УЛЬТРАЗВУКОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ УШАКОВА В.М., ЗУБКОВ Е.А., МОРОЗОВА А.Ю., ЮСУБАЛИЕВА Г.М., ИНОЗЕМЦЕВ А.Н., ЧЕХОНИН В.П.....	376
МЕЖКЛЕТОЧНАЯ АДГЕЗИЯ ПОВЫШАЕТ ЛЕКАРСТВЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОМОНОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА ФАДЕЕВ Р.С., ЗАХАРОВ С.Г., СОЛОВЬЕВА М.Е., СЛЯДОВСКИЙ Д.А., ФАДЕЕВА И.С., СЕНОТОВ А.С., ГОЛЕНКОВ А.К., АКАТОВ В.С.....	376
ОБЛУЧЕНИЕ СОЛНЕЧНЫМ СВЕТОМ ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ В ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ ФАХРАНУРОВА Л.И.....	377
ИЗМЕНЕНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ БЛОКАТОРА КАНАЛОВ TRPC В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ ХАРЬКОВСКАЯ Е.Е., ЖИДКОВА Н.М., МУХИНА И.В.	378

СОДЕРЖАНИЕ

ДИНАМИКА ВРЕМЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИМПУЛЬСНОЙ АКТИВНОСТИ В РЕЦЕПТИВНЫХ ПОЛЯХ НЕЙРОНОВ ПЕРВИЧНОЙ СЛУХОВОЙ КОРЫ ДОМОВОЙ МЫШИ ХОРУНЖИЙ Г.Д.	379
СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИЕНТЕРАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ ХОЧАНСКИЙ Д.Н., МХИТАРОВ В.А., ПОНОМАРЕНКО Е.А.	379
НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К РЕКОНСТРУИРОВАНИЮ СОМАТИЧЕСКОГО ОКРУЖЕНИЯ ОВАРИАЛЬНЫХ ФОЛЛИКУЛОВ И ИЗУЧЕНИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ КЛЕТОЧНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ <i>IN VITRO</i> ХРАМОВА Ю.В., НИКИШИН Д.А., БАГАЕВА Т.С., ФИЛАТОВ М.А., СЕМЕНОВА М.Л.	380
ИССЛЕДОВАНИЕ ОТСТАВЛЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ОСТРОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ НЕОНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ У ДЕТЕНЬШЕЙ БЕЛЫХ КРЫС ХУХАРЕВА Д.Д., СУХАНОВА Ю. А.	381
ИССЛЕДОВАНИЕ Ca^{2+} -АКТИВИРУЕМЫХ Cl^- КАНАЛОВ ANO1 И ANO2 В ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ЧЕРКАШИН А.П., КОЛЕСНИКОВА А.С., РОГАЧЕВСКАЯ О.А., БЫСТРОВА М.Ф.	381
МОРФОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ У КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ИЗБЫТОЧНОМ ПОТРЕБЛЕНИИ УГЛЕВОДОВ И ЖИРОВ ЧЕРНЫШЕВА М.Б., ЦВЕТКОВ И.С., МХИТАРОВ В.А.	382
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ПРОФИЛЕЙ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ СРЕДИ СТУДЕНТОВ ПЕДАГОГИЧЕСКОГО ВУЗА ЧУМАКОВА Е.В., КРАСНИКОВА И.В.	383
ИССЛЕДОВАНИЯ РОЛИ ЦИКЛИЧЕСКОГО АДЕНОЗИНМОНОФOSФАТА В ЭФФЕКТАХ СЕРОВОДОРОДА НА ВЫЗВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ ГАБИТОВА Д.М., ШАЙДУЛЛОВ И.Ф., ШАФИГУЛЛИН М.У.	384
ПИЩЕВОЕ ПОВЕДЕНИЕ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МАССЫ ТЕЛА ПРИ РОЖДЕНИИ ШАХМУРОВ Г.А., КУЧКАРОВА Л.С.	385
УЧАСТИЕ ПРОТЕИНКИНАЗ В ОПОСРЕДОВАНИИ ВЛИЯНИЯ ПРОЛАКТИНА НА МЕТАФАЗНЫЕ ХРОМОСОМЫ В СТАРЕЮЩИХ ООЦИТАХ, ОКРУЖЕННЫХ КЛЕТКАМИ КУМУЛЮСА ШЕДОВА Е.Н., СИНГИНА Г.Н., ЛЕБЕДЕВА И.Ю.	385
ВЛИЯНИЕ ТРОПОМИОЗИНА С КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИМИ МУТАЦИЯМИ НА КАЛЬЦИЕВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СКЕЛЕТНОМЫШЕЧНЫХ АКТИНА И МИОЗИНА ЩЕПКИН Д.В., КОПЫЛОВА Г.В., МАТЮШЕНКО А.М., БОРОВКОВ Д.И., ЛЕВИЦКИЙ Д.И., БЕРШИЦКИЙ С.Ю.	386
ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ А2Е И ЕГО ОКИСЛЕННЫХ ФОРМ В ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛАХ ИЗ КЛЕТОК РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА ЯКОВЛЕВА М.А., ГУЛИН А.А., БЕЛЬСКИХ Ю.С., АРБУХАНОВА П.М., НАДТОЧЕНКО В.А., ФЕЛЬДМАН Т.Б., БОРЗЕНКО С.А., ОСТРОВСКИЙ М.А.	387
ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПОСЛЕ ИШЕМИИ И НА ФОНЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ЯНКАУСКАС С.С., МАЦИЕВСКИЙ Д.Д., ЗОРОВА Л.Д., ЗОРОВ Д.Б., ПЛОТНИКОВ Е.Ю.	388
СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФОТОБИОЛОГИЯ» MOLECULAR DYNAMIC SIMULATIONS OF WATER MOVEMENT IN CYANOBACTERIAL PHOTOSYSTEM II KJASHTORNY V.G., GABDULKHAKOV A.G.	389

СОДЕРЖАНИЕ

ВЛИЯНИЕ ОСВЕЩЁННОСТИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И УДЕЛЬНУЮ СКОРОСТЬ РАСХОДА БИОМАССЫ ЦИАНОБАКТЕРИИ <i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i> (NORDST.) GEITLER АВСИЯН А.Л., ТРЕНКЕНШУ Р.П.	389
ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН КЛЕТКАМИ ЭНДОФИТНЫХ ШТАММОВ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА ПОСТУПЛЕНИЕ ИОНОВ СВИНЦА В ПОБЕГИ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> АРЕФЬЕВА А.А., АРСЛАНОВА А.И., СМИРНОВА Ю.В., КУРАМШИНА З.М., ХАЙРУЛЛИН Р.М.	390
ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ХЛОРОФИЛЛА В СЕМЯДОЛЬНЫХ ЛИСТЬЯХ <i>LINUM USITATISSIMUM</i> , ОБЛУЧЕННОГО ОСТРОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ РАДИАЦИЕЙ БЕРЕСТЯНАЯ А.Н.	391
ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ И СКОРОСТИ РОСТА НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРЕ <i>PORPHYRIDIVM PURPUREUM</i> БОРОВКОВ А.Б., ГУДВИЛОВИЧ И.Н.	391
ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ ПОЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА АУКСИНА И ДЕЙСТВИЕ ЭТИЛЕНА НА ПЕРЕСТРОЙКИ АКТИНОВЫХ МИКРОФИЛАМЕНТОВ В ХОДЕ ГРАВИТРОПИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ КОРНЕЙ АРАБИДОПСИСА ГОБОВА А.Е.	392
АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ПРОФИЛЕЙ КОРНЕЙ ГОРОХА (<i>PISUM STIVUM</i> L.) ЖЕРНАКОВ А.И., ЖУКОВ В.А.	393
ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБНОСТИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ <i>PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM</i> К МИКСОТРОФНОМУ ТИПУ ПИТАНИЯ ЖОНДАРЕВА Я.Д.	393
ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ОРГАНАХ ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ СУЛЬФАТНОГО ЗАСОЛЕНИЯ ЖУКОВ Н.Н., ЛОБАНОВА Т.Н., БОЙКОВА О.И.	394
УЧАСТИЕ ТИЛАКОИДНОЙ А-КА4 В ЗАЩИТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ОТ ФОТОИНГИБИРОВАНИЯ ЖУРИКОВА Е.М., ИГНАТОВА Л.К., МУДРИК В.А., ИВАНОВ Б.Н.	395
ИК-СПЕКТРОСКОПИЯ ЭКСТРАКТОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ НАНОЧАСТИЦАМИ МЕТАЛЛОВ КОРОТКОВА А.М., СИЗОВА Е.А.	395
МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ПРИ ПОРАЖЕНИИ ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКОЙ НЕМАТОДОЙ ЛАВРОВА В.В., МАТВЕЕВА Е.М.	396
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА <i>SUCSD3</i> И СОДЕРЖАНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА И ОКСИДА АЗОТА В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ГРЕЧИХИ С РАЗНОЙ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЛУГМАНОВА А.Ф.	397
ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И УРОВНЯ АФК В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННЫХ КУЛЬТУР РАСТЕНИЙ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ ЛЮБУШКИНА И.В., ФЕДЯЕВА А.В., СТЕПАНОВ А.В., ПОБЕЖИМОВА Т.П., РИХВАНОВ Е.Г.	397
ВЛИЯНИЕ ЛАНТАНОИДОВ НА ВОДНУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН МИРЗИЕВ С.И., СИБГАТУЛЛИН Т.А., ВОРОБЬЁВ В.Н.	398
РЕГУЛЯЦИЯ РАЗМЕРА АНТЕННЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПРИ ПОВЫШЕНИИ ОСВЕЩЕННОСТИ РАСТЕНИЙ БОРИСОВА-МУБАРАКШИНА М.М., ВЕТОШКИНА Д.В., ЛЮБИМОВ В.Ю., ФЕДОРЧУК Т.П., КОЗУЛЕВА М.А., НАЙДОВ И.А., РУДЕНКО Н.Н., ИВАНОВ Б.Н.	399
ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НИЛОВА И.А., РЕПКИНА Н.С.	400

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТОПОЛЕЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В МОСКВЕ В СВЯЗИ С ИЗУЧЕНИЕМ СИСТЕМАТИКИ РОДА ОРЕХОВА Е.	400
РОЛЬ ФИЛЛОХИНОНА В ПРОЦЕССАХ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА В ФОТОСИСТЕМЕ I ПЕТРОВА А.А., БОСХОМДЖИЕВА Б.К., КОЗУЛЕВА М.А.	401
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА КАТАЛАЗ РИСА (<i>ORYZA SATIVA L.</i>) ПРИ АНОКСИИ И ПОСЛЕДУЮЩЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ ПРИКАЗЮК Е.Г., ЕМЕЛЬЯНОВ В.В.	402
МОБИЛЬНЫЕ ФРАКЦИИ УГЛЕВОДОВ КАК РЕЗЕРВ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ЗЕРНОВОК СИНЕНКО О.С., ПАРАСОЧКА И.В., ПОДОПРИГОРИНА С.И.	403
МУТАЦИЯ <i>TENDRILLED ACACIA</i> -А ИЗМЕНЯЕТ РАЗВИТИЕ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ ЛИСТА У ГОРОХА (<i>PISUM SATIVUM L.</i>) СИНЮШИН А.А., АВЕРЧЕВА О.В., КРИВОШЕЕВА И.А., АШ О.А., ХАРТИНА Г.А.	403
ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ПО ПРОИСХОЖДЕНИЮ ФОРМ ВИНОГРАДА НА РАЗВИТИЕ <i>PLASMOPARA VITICOLA</i> СУНДЫРЕВА М.А., КОЛМЫКОВ А.Е.	404
ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МЕМБРАН У ДРЕВЕСНЫХ ИНТРОДУЦЕНТОВ ТЕХНОГЕННО-ЗАГРЯЗНЕННЫХ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ Г.ТУЛЫ ТИМАКОВА Е.В., МУРАВЬЕВА Ю.А., ТОЛКУНОВА Е.Ю., ГОРЕЛОВА С.В.	405
ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ И БЕРЕЗЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИН СИНТЕТАЗЫ <i>GS1</i> ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА РАЗЛИЧНОМ АЗОТНОМ ФОНЕ ФАСХИЕВ В.Н., ЛЕБЕДЕВ В.Г., ШЕСТИБРАТОВ К.А.	406
ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ИОНООБМЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ТИЛАКОИДАХ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ВЫЯВЛЯЮТСЯ ДВА МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ НОСИТЕЛЯ КАРБОАНГИДРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕДОРЧУК Т.П.	406
ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА И ГЛУТАТИОНА У КОНТРАСТНЫХ ПО ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ФЕНЬКО А.А., РЕПКИНА Н.С., ТАЛАНОВА В.В.	407
ИЗУЧЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРИОБРЕТЕННЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ РОДА <i>NICOTIANA</i> ОТ АГРОБАКТЕРИЙ ХАФИЗОВА Г.В., МАТВЕЕВА Т.В.	408
ПОЛУЧЕНИЕ КДНК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МИКРОРНК, ИНДУЦИРУЕМЫХ СОЛЕВЫМ СТРЕССОМ У ГАЛОФИТА ШУВАЛОВА Е.Ю., ШУВАЛОВ А.В.	408
ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА ДОНОРНОЙ СТОРОНЕ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ЯНЫКИН Д.В., ХОРОБРЫХ А.А., КЛИМОВ В.В.	409
СЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ» ECOLOGY AND BIOLOGY OF TERMITES (ISOPTERA) IN THE KHOREZM REGION OF UZBEKISTAN ALLABERGANOVA K.S.	410
СОСТОЯНИЕ <i>PINUS SYLVESTRIS L.</i> И <i>BETULA PENDULA L.</i> В ЛЕСОПАРКОВОЙ ЗОНЕ О. ЯГРЫ ПРИМОРСКОГО РАЙОНА АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ АБАКУМОВА Е.В., БЕДРИЦКАЯ Т.В.	410
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ УРБАНОСРЕДЫ НА АКТИВНОСТЬ САХАРАЗЫ В ЛИСТЬЯХ <i>POPULUS PYRAMIDALIS</i> АНТОНЮК А.Ю., ЧЕМАРКИН Д.А., СИМОНОВА З.А.	411

СОДЕРЖАНИЕ

ЭКОЛОГИЯ И СИНЕРГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ АГЕНТОВ, ГИПЕРТЕРМИИ И ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ БАБИНА Д.Д., ЕВСТРАТОВА Е.С.	412
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ БУРЫХ УГЛЕЙ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ НА ПРИМЕРЕ ПШЕНИЦЫ БЕРЕЗА С.А., ЛОМОВСКИЙ А.И., ФУНТИКОВА Т.В.	412
РОСТ И ЛИПИДООБРАЗОВАНИЕ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОЧВ МОЛДОВЫ НА СИНТЕТИЧЕСКИХ И КОМПЛЕКСНЫХ СРЕДАХ БЕРЕЗЮК Ю.Н.	413
ЗООПЛАНКТОН УСТЬЕВОЙ ОБЛАСТИ МАЛОГО ПРИТОКА РАВНИННОГО ВОДОХРАНИЛИЩА И РЕАКЦИЯ ХАОТИЧЕСКИХ КВАЗИАТТРАКТОРОВ СООБЩЕСТВ В УСЛОВИЯХ КЛИМАТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ ЖАРКИХ ЛЕТ БОЛОТОВ С.Э.	414
НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ПАЛЕАРКТИЧЕСКОГО ВИДА АМФИПОД <i>GAMMARUS LACUSTIS</i> SARS ИЗ ОЗ. ШИРА ПРИ ОСТРОМ И ГРАДИЕНТНОМ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТРЕССАХ ВЕРЕЩАГИНА К.П., ШАТИЛИНА Ж.М., АКСЕНОВ-ГРИБАНОВ Д.В., ГУРКОВ А.Н., ЗАДЕРЕЕВ Е.С., ТИМОФЕЕВ М.А.	415
СЕЗОННЫЕ И СУТОЧНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ В РАЗВИТИИ ФИТОПЛАНКТОНА РЕКИ ГАВАРАГЕТ ГАМБАРЯН Л.Р., МАМЯН А.С., СТЕПАНЯН Л.Г.	415
ИНТЕРЕСНЫЕ НАХОДКИ СОЛНЕЧНИКОВ В КОНТИНЕНТАЛЬНЫХ ВОДОЕМАХ РОССИИ ГЕРАСИМОВА Е.А.	416
ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ РАСТВОРЕННОГО ОЗОНА НА НИТРИФИЦИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ АЭРОТЕНКА ГОЛОВИНОВ В.В., ИСМАИЛОВА Д.Н.	417
ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА В ПРОМЫШЛЕННЫХ РАЙОНАХ ГОРОДА ТУЛЫ ГОРЕЛОВА С.В., КОЗЛОВ С.А., ТОЛКУНОВА Е.Ю., ЛЯПУНОВ С.М., ГОРБУНОВ А.В., ОКИНА О.И., ФРОНТАСЬЕВА М.В.	418
ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА ЭНДЕМИЧНОГО БАЙКАЛЬСКОГО ВИДА АМФИПОД <i>EULIMNOGAMMARUS VERRUCOSUS</i> НА ОСНОВЕ ФРАГМЕНТА ГЕНА ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ ГУРКОВ А.Н., ФЕРНАНДЕС-КАСАС И., РИВАРОЛА-ДУАРТЕ Л., БЕДУЛИНА Д.С., ШТАДЛЕР П.Ф., КОТЛОВ М.Ю., ТИМОФЕЕВ М.А., ЛЮКЕНБАХ Т.	418
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРОСПОРИДИЙ ГЕМОЛИМФЫ БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД И ОДНОГО ПАЛЕАРКТИЧЕСКОГО ВИДА <i>GAMMARUS LACUSTRIS</i> ДИМОВА М.Д., МАДЬЯРОВА Е.В., АДЕЛЬШИН Р.В.	419
ПОИСК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ ПОЧВЕННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ЗОНЕ СУХИХ СТЕПЕЙ И ПОЛУПУСТЫНЬ ДРОНОВА С.А., ТЕМРАЛЕЕВА А.Д.	420
ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ УРОВНИ ОСЛАБЛЕНИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ЗЕМЛИ ЕМЕЛЬЯНОВА М.С.	421
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ШЛАМА НА РАСТЕНИЯХ СВЁКЛЫ САХАРНОЙ ЗАХАРОВА О.В., ГУСЕВ А.А., СЕНАТОВА С.И., ЧУПРУНОВ К.О., КУЗНЕЦОВ Д.В.	422
ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ РОДНИКОВ ВОСКРЕСЕНСКОГО РАЙОНА МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ЗУБАРЕВА Е.В., САВОСЬКИНА А.А.	422

СОДЕРЖАНИЕ

АНАЛИЗ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ЗАРАСТАЮЩИХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ УГОДИЙ АСКИНСКОГО РАЙОНА ИБРАГИМОВ И.И., ПЕТРОВ С.С.....	423
АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ ОХРАНЯЕМОГО ЛИШАЙНИКА <i>LOBARIA PULMONARIA</i> (L.) HOFFM. В ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВАХ МУЗЕЯ-ЗАПОВЕДНИКА «КИЖИ» И ЗАКАЗНИКА «КИЖСКИЙ» (РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ) ИГНАТЕНКО Р.В., МАРТЬЯНОВ Р.С., ТАРАСОВА В.Н.....	424
ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОЙ СТРУКТУРЫ И ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАЗМЕЩЕНИЕ СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА РЕКИ ЧАРА И ОЗЕРА ЧАРСКОЕ (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ) ИЛЬИН М.Ю., ЖИХАРЕВ В.С., ШУРГАНОВА Г.В.....	425
ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СНЕЖНОГО ПОКРОВА И ДРЕВОСТОЯ В ИМПАКТНОЙ ЗОНЕ КОМБИНАТА ОАО «СЕВЕРОНИКЕЛЬ» ИСАЕВА А.С., КУЛЕШ К.М., ПРИЙМАК П.Г.	425
ГАЛОФИТНАЯ РАСТИТЕЛЬНОСТЬ. ОХРАНА РЕДКИХ ГАЛОФИТНЫХ СООБЩЕСТВ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН КАРПОВ Д.Н., КАРПОВ С.Д., ЗАГИДУЛЛИНА Л.Ф.....	426
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СЕДИМЕНТАЦИОННЫХ СВОЙСТВ АКТИВНОГО ИЛА НА ДЕГИДРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ КОЗЛОВА А.А., ЧУХЧИН Д.Г.	427
КРИТЕРИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ СИНТЕЗА И ЭКСПЛУАТАЦИИ СЕТЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И КОМПОЗИТОВ НА ИХ ОСНОВЕ КОСАРЕВ А.В., ДОБРЮЛЮБОВА Т.А.	428
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РОСТА КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ <i>SCENEDESMUS QUADRICAUDA</i> (TURP.) BRÉV. И <i>MONORAPHIDIUM ARCUATUM</i> (KORSCH.) HIND. ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ В РАЗНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА КРАВЦОВА Г.В.....	429
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ МАРИЙ ЭЛ В 2013 ГОДУ КРАЕВА Е.М.....	429
ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И СРЕДОВАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА КОЛОРАДСКОГО ЖУКА КУЧЕРОВ Д.А.....	430
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА ПЕРЕХОДА $90SR$ В КОРНИ И ПРОРОСТКИ КРЕСС-САЛАТА ПРИ ЕГО ПРОРАЩИВАНИИ В ЗАГРЯЗНЕННОЙ ВОДЕ КЫЛИНА Н.С., ПАВЛОВА Н.Н.	431
ЗООГИДРОБИОНТЫ В МОНИТОРИНГЕ ОЗЕР ИЛЬМЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАПОВЕДНИКА ЛИТУС К.Е., АРТЮКОВ Е.В., МАШКОВА И.В.	432
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ РЕК ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ЛОМОВСКИЙ А.И., ФУНТИКОВА Т.В., БЕРЕЗА С.А.	432
ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ БЕЛОГО ФОСФОРА ПРИ ПОМОЩИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ МИНДУБАЕВ А.З., АЛИМОВА Ф.К., САПАРМЫРАДОВ К.А., ВОЛОШИНА А.Д., ГОРБАЧУК Е.В., МИНЗАНОВА С.Т., ЯХВАРОВ Д.Г.	433

СОДЕРЖАНИЕ

АЛЬГОЛОГИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ РОССИИ: СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ МОСКАЛЕНКО С.В., ТЕМРАЛЕЕВА А.Д.	434
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ В БИОМОНИТОРИНГЕ МЯКИШКОВ К.А., ПАШИНА Е.А.	435
ОСОБЕННОСТИ ФЛОРИСТИЧЕСКОГО СОСТАВА НОВОГО ИНВАЗИВНОГО ВИДА ЧЕРЕДЫ ОЛИСТВЕННОЙ (<i>BIDENS FRONDOSA</i>) В ЭКОСИСТЕМАХ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАКА НИЗАМОВА Д.Р., ПЕТРОВ С.С.	435
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ФИТОПЛАНКТОНА ОЗЕР ИЛЬМЕНСКОЕ И АРГАЯШ (ИЛЬМЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЗАПОВЕДНИК) НУТФУЛЛИНА В.Х., КОСТРЮКОВА А.М.	436
МАКРОМИЦЕТЫ БОЛОТА «ФАБРИЧНОЕ» (Г.БОРОВСК, КАЛУЖСКАЯ ОБЛАСТЬ) ОРЕХОВА В.А., БОГОМОЛОВА А.А.	437
ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ОРГАНИЗМАХ ДАФНИЙ И ПЛАНАРИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ 90SR ПАВЛОВА Н.Н.	437
ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ВАЛУЕВСКОГО ЛЕСОПАРКА ПАСТУХ А.В., МАНУКОВ Ю.И.	438
МОНИТОРИНГ ВИДОВОГО СОСТАВА МАКРОМИЦЕТОВ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК ПЕТРОВ А.Е., МИХАЙЛОВА В.А., ПЕТРОВА М.В.	439
РЕДКИЕ И ИСЧЕЗАЮЩИЕ ВИДЫ В СОСТАВЕ ФЛОРЫ ГОРЫ НАРЫСТАУ ПЕТРОВА М.В., ПЕТРОВ С.С.	439
РАДИАЛЬНЫЙ ПРИРОСТ ЖЕЛТО- И КРАСНОПЫЛЬНИКОВОЙ ФОРМ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ УСТЬЯ СЕВЕРНОЙ ДВИНЫ ПИНАЕВСКАЯ Е.А., ТАРХАНОВ С.Н.	440
ПРОДУКЦИЯ ВЫСОКОТРАВНЫХ ГЕЛОФИТОВ В ВЯТСКО-КАМСКОМ ПРЕДУРАЛЬЕ ПЛАТУНОВА Г.Р., КАПИТОНОВА О.А.	441
БИОРАЗНООБРАЗИЕ МАКРОФИТОВ В ИНДИКАЦИИ ВОДЫ ОЗЕР ИЛЬМЕНСКОЕ И АРГАЯШ ПРОСКУРИНА А.И., ГАРАЕВ Д.Р., КРУПНОВА Т.Г., МАШКОВА И.В.	442
ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТЕМПЕРАТУРНЫХ НОРМ РАЗВИТИЯ У ДВУХ ПОПУЛЯЦИЙ БАБОЧКИ ДНЕВНОЙ ПАВЛИНИЙ ГЛАЗ <i>INACHIS IO</i> (LEPIDOPTERA, NYMPHALIDAE) РЫЖКОВА М.В., ЛОПАТИНА Е.Б.	442
СООТНОШЕНИЕ ВРЕМЕННОЙ И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ДЫХАНИЯ ПОЧВЫ СМОРКАЛОВ И.А.	443
ФОРМИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ГЕОГРАФИЧЕСКИ ОТДАЛЕННОГО МАТЕРИАЛА <i>RHODIOLA ROSEA</i> L. ТАГИМАНОВА Д.С., АБДРАШЕВА К.К., КУПЕШЕВ Ж.С., УВАШОВ А.О., НОВАКОВСКАЯ А.П., ДАНИЛОВА А.Н., ХАПИЛИНА О.Н.	444
БИОИНДИКАЦИЯ ВОДЫ ОЗЕРА ИЛЬМЕНСКОЕ ПО БИОРАЗНООБРАЗИЮ ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА ТИМОШЕНКО О.Д., БИЛАЛОВА А.С., МАШКОВА И.В., КРУПНОВА Т.Г.	444
ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ МАРГАНЦА НА РАСТЕНИЯ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> ТКАЧ Е.П., ВАКЕРИЧ М.М., НИКОЛАЙЧУК В.И.	445

СОДЕРЖАНИЕ

МЕДОНОСНЫЕ РАСТЕНИЯ ГОРЫ КУНГУРБУКА ЧАТКАЛЬСКОГО ХРЕБТА ТОЖИБОВ М.У.	446
СТРУКТУРА РАСТИТЕЛЬНОСТИ И ОСОБЕННОСТИ ДЕГРАДАЦИИ ПУСТЫННЫХ ЭКОСИСТЕМ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА НА РАЗНОВОЗРАСТНЫХ МЕСТАХ ПРИЗЕМЛЕНИЯ ПЕРВЫХ СТУПЕНЕЙ РАКЕТ-НОСИТЕЛЕЙ «СОЮЗ» ФЕОДОРITОВ В.М.	447
ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА РЕЗУЛЬТАТЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЁННЫХ ТЯЖЁЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ФОКИНА А.И., ОЛЬКОВА А.С., ЛЯЛИНА Е.И., КАБАЛОЕВ З.В.	447
ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ КЛАССА ОПАНОСТИ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД ХАРЧЕНКО В.В., КОСТРЮКОВА А.М.	448
ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕТАЛЛИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В РАСТЕНИЯХ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ЧАПЛЫГИН В.А., МИНКИНА Т.М., МАШТЫКОВА Л.Ю.	449
ФИТОИНДИКАЦИЯ ГАЗОДЫМОВОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ Г. БИЙСКА ШАБАНОВА Н.Ю., ЗУБКОВА О.А.	450
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РЕЛЬЕФА СОЧИНСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА ШЕВЧЕНКО А.С.	450
ПЕРВЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ДВУХ КАРЬЕРАХ В КАЛУЖСКОЙ И ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТЯХ ШИГАНОВА Д.А.	451
ОСТРАКОДЫ ПОЗДНЕГО БАЙОСА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ КАК ПАЛЕОТЕМПЕРАТУРНЫЕ ИНДИКАТОРЫ ШУРУПОВА Я.А., ТЕСАКОВА Е.М.	452
ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТИ У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД НА ПРИМЕРЕ ВИДОВ РОДА <i>EULIMNOGAMMARUS</i> В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ФРАКЦИЙ НЕФТИ ЩАПОВА Е.П., КОТЛОВ М.Ю., ШИРОКОВА Ю.В., АКСЕНОВ-ГРИБАНОВ Д.В.	452
БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ <i>HORDEUM SPONTANEUM</i> С. КОСН. ЭРМАТОВА Г.З., ИМИРСИНОВА А.А.	453
РОЛЬ УТИНЫХ ПТИЦ В РАССЕЛЕНИИ ТРЕМАТОДЫ <i>BILHARZIELLA POLONICA</i> (KOWALEWSKI, 1895) LOOSS, 1899 НА ТЕРРИТОРИИ КАРЕЛИИ ЯКОВЛЕВА Г.А., ЛЕБЕДЕВА Д.И.	454

19-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»

В оформлении обложки использованы фотографии участников
конференции: Анастасии Тугбаевой, Вячеслава Жихарева,
Сергея Семенкова, Николая Каранова

ISBN 978-5-9906586-0-8





ЛАБ Инструментс

Лабораторное оборудование, аналитические приборы и расходные материалы для комплексного оснащения лабораторий

Цель компании *ЛабИнструментс* – предложить Вам, нашему покупателю, максимально широкий ассортимент качественной продукции и профессиональный сервис. А накопленный нами опыт и знания сделают наше предложение максимально выгодным для Вас.

Компания *ЛабИнструментс* занимается поставкой разнообразного лабораторного оборудования и расходных материалов для комплексного оснащения научных лабораторий и производственных предприятий биологического, химического и биотехнологического профиля.

Компания *ЛабИнструментс*, среди прочего, предлагает передовое оборудование производства компаний *LI-COR* (США) и *Eppendorf AG* (Германия).

Компания *LI-COR* является мировым лидером в производстве оборудования для детекции биомолекул методом флуоресценции в ближней ИК-области. В ассортимент продукции компании *LI-COR* входят: передовые многофункциональные ИК-документирующие системы – ODYSSEY-CLx и ODYSSEY-Sa; система сочетающая достоинства ИК-флуоресценции и хемилюминесценции – ODYSSEY-Fc; системы, предназначенные для in vivo визуализации изображений мелких животных - Pearl Impulse и Pearl Trilogy, недорогой сканер хемилюминесцентных Western-блотов – C-DiGit, а также разнообразные реагенты, расходные материалы и аксессуары.

LI-COR®



Компания **Eppendorf AG** (Германия) является признанным мировым лидером на рынке лабораторного оборудования, аналитических приборов и расходных материалов. Компания **Eppendorf AG** предлагает: широкий выбор расходных материалов, разнообразные пипетки и дозаторы, полный спектр настольных центрифуг для современной лаборатории, широкий выбор амплификаторов для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР), высококачественные лабораторные устройства для подготовки и/или обработки проб (перемешивания, нагрева и охлаждения) и многое другое.

eppendorf



Компания **ЛабИнструментс** сотрудничает со многими ведущими фирмами-производителями из Америки и Европы. Это обеспечивает высокое качество поставляемой продукции и надежность предлагаемых технических решений.

Нашими основными поставщиками являются такие компании как: **LI-COR Biosciences, Eppendorf AG, Labconco Corporation, VWR USA, New Brunswick Scientific, Merck-Millipore, Linseis Messgeraete GmbH** и многие другие.

Также, компания **ЛабИнструментс** имеет возможность поставить любое уникальное оборудование и расходные материалы от не столь широко известных производителей из Америки и Европы.

Компания **ЛабИнструментс** обеспечивает полный комплекс услуг для решения задач, поставленных покупателем:

1. Сотрудники компании, имеющие большой опыт работы в научно-исследовательских учреждениях, помогут выбрать оборудование для решения конкретной задачи и подберут оптимальный вариант по соотношению цена-качество;

2. Мы осуществляем доставку оборудования от производителя до заказчика, используя отлаженную систему логистики;

3. Высоквалифицированные инженеры сервисной службы выполняют ввод в эксплуатацию, гарантийное и послегарантийное обслуживание приобретенного оборудования;

4. Сервисная служба компании **ЛабИнструментс** предлагает услуги по ремонту и дальнейшему обслуживанию приборов производства **Labconco Corporation** и **New Brunswick Scientific** независимо от источника покупки, а также морозильного оборудования любых марок и года выпуска, возможен выезд инженера в регионы России.

ООО «Компания ЛабИнструментс»

ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, Москва 117997

Телефон / факс: +7 (499) 724-8872, +7 (495) 223-4815

sales@labinstruments.ru

www.labinstruments.ru



НеоГен – генерируя инновации

Время – самый главный человеческий ресурс.
В разные моменты может быть больше или меньше денег,
но больше времени у вас не будет никогда.
Мы выполняем заказы быстро, и тем самым экономим
ваше время.

**РЕАКТИВЫ ДЛЯ
БИОХИМИИ И
МОЛЕКУЛЯРНОЙ
БИОЛОГИИ**

**РЕАКТИВЫ ДЛЯ
СЕКВЕНИРОВАНИЯ**

**ЛАБОРАТОРНОЕ
ОБОРУДОВАНИЕ**

**РЕАКТИВЫ ДЛЯ
БИОСКРИНИНГА
И РАЗРАБОТКИ
ЛЕКАРСТВ**

**СИНТЕЗ ГЕНОВ
И ПЕПТИДОВ**

АНТИТЕЛА

**СЕКВЕНИРОВАНИЕ
illumina**

e-mail: info@neogen.ru
телефон: +7(495)972-9764

Назовите промо-код "Пушино апрель 2015", и получите дополнительно 3% скидки (на синтез генов и пептидов – 5%)

Реактивы

Неорганическая химия
Органическая химия
Антитела
Праймеры, олигонуклеотиды

Оборудование

Общелабораторное оборудование
РН-метры
Центрифуги
Спектрофотометры
Термостаты
Фотометры
Шейкеры
Холодильники
Автоклавы
Бани водяные
Автоматические дозаторы
Ультразвуковые ванны
Весы
Вортексы
Гомогенизаторы
Дистилляторы
Кюветы
Магнитные мешалки
Морозильники

Клеточная биология

Анализаторы клеток
Вытяжные шкафы
Ламинарные шкафы
Лиофильные сушки
Проточные цитометры и сортеры
СО₂-инкубаторы
Ферментеры
Электропораторы

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Амплификаторы
ПЦР-боксы
Флюориметры
Системы для проведения цифровой ПЦР

Иммуноферментный анализ

Вошеры для планшет
Мультиплексные иммуноанализаторы
Планшетные фотометры
Планшетные шейкеры

Хроматография

Хроматографические системы
Колонки для хроматографии

Организация семинаров

Спонсорская помощь в проведении научных конференций

Реактивы



Оборудование



Организация семинаров



Спонсорская помощь в проведении научных конференций



ОКА
biolab®

Комплексное оснащение лабораторий

Контактная информация:

ООО «Окабиолаб»
www.okabiolab.ru

142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, д. 7

Тел. +7 (495) 502-59-93; (4967) 33-06-09;

Факс (4967) 33-00-16

e-mail: info@okabiolab.ru