

ФГБУН Пушинский научный центр РАН  
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН  
Совет молодых ученых и специалистов ИТЭБ РАН



**СБОРНИК ТЕЗИСОВ**

**22-ой Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых  
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

23-27 апреля 2018, г. Пушино



Из твердых отходов предприятия химического синтеза нами был выделен бактериальный изолят, способный к росту на питательных средах с алканами в качестве единственного источника углерода и энергии. По гену 16S рПНК изолят идентифицирован как *Tsukamurella tyrosinosolvens* PS2. Нами была расшифрована нуклеотидная последовательность полного генома *T. tyrosinosolvens* PS2 размером 4.84 Мб (Illumina, MiSeq). В геноме исследуемого штамма обнаружены гены системы атаки алкановой цепи и бета-окисления жирных кислот, позволяющих штамму осуществлять полное окисление алканов до ацетил-КоА.

Известны геномы трех штаммов вида *T. tyrosinosolvens*, представленные в базе данных NCBI: *T. tyrosinosolvens* PS2 (исследуемый штамм), *T. tyrosinosolvens* CCUG 38499 (клинический штамм) и *T. tyrosinosolvens* JCM 15482 (почвенный штамм). Поиск генетических детерминант патогенности был проведен в программе MP3: Prediction of Pathogenic/Virulent Proteins, по следующим факторам: адгезия, инвазия, секреция и резистентность микроорганизмов. Использован гибридный подход с применением SVM и НММ моделей для достижения большей точности результатов. Всего обнаружено 533 гена, из которых 516 являлись общими для всех трех штаммов, 7 генов уникальных для исследуемого штамма и 10 генов характерных для клинического и почвенного изолятов.

В исследуемом штамме отсутствовали факторы инвазии, участвующие в первичной атаке клеток и тканей организма-хозяина, а именно гены ферментов трипсина и эндопептидазы. Отсутствовали гены синтеза псевдоаминовой кислоты, необходимой для движения бактериальной клетки и инвазии в ткани организма-хозяина. Не обнаружены ключевые гены системы секреции IV типа, которая зачастую осуществляет секрецию белков вирулентности в эукариотическую клетку.

Выявленные в ходе полногеномного профилирования отличия представляют интерес для изучения особенностей метаболизма представителей данного вида. Нехватка генов первичной атаки клеток и тканей организма-хозяина у штамма PS2, вероятно, снижает степень его вирулентности. Окончательное заключение о безопасности исследуемого микроорганизма будет получено после проведения испытаний на экспериментальных организмах.

## ВЛИЯНИЕ КРАСНОГО ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА В СОСТАВЕ ХИМЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ SUP35NM-MCHERRY НА СВОЙСТВА ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>] У ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE

**Рыжкова В.Е.<sup>1</sup>, Матвеев А.Г.<sup>1</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

[ya\\_barbara@mail.ru](mailto:ya_barbara@mail.ru)

Sup35 – фактор терминации трансляции в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. Его агрегация приводит к появлению приона [PSI<sup>+</sup>], фенотипическим проявлением которого является супрессия нонсенс-мутаций. Например, в присутствии нонсенс-мутации *ade1-14* клетки, не содержащие прион ([psi<sup>-</sup>]), ауксотрофны по аденину. Но при наличии приона [PSI<sup>+</sup>] белок Sup35 в агрегированном состоянии не может выполнять свои функции, следовательно, происходит прочтение стоп-кодона, и клетки восстанавливают прототрофность по аденину. Поддержание приона в клетках обеспечивается прионным (N) доменом, который находится в N-концевой части Sup35. Сверхпродукция N-домена, либо NM-доменов (Sup35NM), повышает частоту появления приона. При отсутствии C-конца белок не может выполнять свои функции фактора терминации трансляции, но по-прежнему способен формировать [PSI<sup>+</sup>].

Для визуализации агрегатов в клетках дрожжей используется конструкция Sup35NM-GFP, которая позволяет наблюдать агрегаты Sup35 в клетках [PSI<sup>+</sup>]. При этом в клетках [psi<sup>-</sup>] Sup35NM-GFP демонстрирует равномерное свечение в цитоплазме. Для исследования колокализации различных вариантов белка Sup35 нами была сконструирована плазмида для экспрессии SUP35NM-mCherry. Но в отличие от Sup35NM-GFP, которые формировал заметные агрегаты, Sup35NM-mCherry показывал только диффузное свечение в штаммах [PSI<sup>+</sup>]. При этом обе конструкции в равной степени приводили к прионной токсичности (гибель клеток при увеличенной продукции Sup35 в клетках [PSI<sup>+</sup>]). Кроме того, в клетках [psi<sup>-</sup>], продуцирующих Sup35NM-mCherry, наблюдалось формирование приона [PSI<sup>+</sup>] *denovo*, причём с большей эффективностью, чем в клетках, продуцирующих Sup35NM-GFP. Следовательно, конструкция



Sup35NM-mCherry функциональна, тем не менее неясно, почему она не позволяет визуализировать агрегаты [PSI<sup>+</sup>]. Мы предположили, что Sup35NM-mCherry в клетках дрожжей подвергается протеолизу, в результате чего mCherry перестаёт быть связанным с Sup35NM, что приводит к диффузному свечению в клетках. Для проверки этой гипотезы мы сравнили продукцию Sup35NM-GFP и Sup35NM-mCherry с помощью вестерн-блот гибридизации. Действительно, мы наблюдали усиленную деградацию Sup35NM-mCherry. Таким образом, Sup35NM-mCherry недостаточно стабилен для его использования в анализе локализации агрегатов [PSI<sup>+</sup>]. Однако причины этой нестабильности остаются неясными и требуют дальнейшего изучения.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00202 и НИР СПбГУ 1.10.1169.2016.

## РАЗЛИЧИЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИЗОМЕРОВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА В ОТНОШЕНИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ ЛЕГКОГО ЧЕЛОВЕКА

**Савинова Е.А.<sup>1,2</sup>, Сергеева В.А.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>1</sup>, Вейко Н.Н.<sup>1</sup>, Трошин П.А.<sup>3</sup>, Мартынов А.В.<sup>1</sup>, Каменева Л.В.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия

*savinova.ekaterina96@yandex.ru*

В настоящее время возрастает число синтезированных производных фуллерена. На основе производных фуллерена изготавливают новые технологические материалы (полимеры, катализаторы, полупроводниковые пленки). Водорастворимые производные фуллеренов проявляют биологическую активность. Поскольку человек в будущем будет все чаще контактировать с новыми соединениями фуллерена, целесообразно исследовать их влияние на клетки человека.

Исследовали влияние производного фуллерена [C60], ОКР-111 (формула исследованного соединения C60[CH(COOK)2]6, молекулярная масса 1618 г/моль) и его структурного изомера ОКР-112 на эмбриональные фибробласты легкого человека (ФЛЭЧ).

Для оценки цитотоксичности исследуемого соединения был проведен стандартный МТТ-тест. ОКР-112 в большей степени подавляет метаболическую активность эмбриональных фибробластов – отсутствие ингибирующего эффекта соединения ОКР-112 выявлено в концентрациях менее 2,2 нг/мл, для соединения ОКР-112 – менее 130 нг/мл.

Повреждающее действие соединений ОКР-111 и ОКР-112 на клетку может реализовываться в виде повреждения ДНК клеток. Исследование количества одно- и двунитевых разрывов ДНК в ФЛЭЧ проводили с использованием метода комет. Определяли показатель - момент хвоста ДНК-кометы, являющийся произведением процента ДНК в хвосте кометы и длины хвоста кометы. Через час после добавления соединения ОКР-112 в концентрации 4 мкг/мл к среде культивирования ФЛЭЧ количество разрывов в клетках возрастает в 2 раза по сравнению с контролем. Добавление фуллерена ОКР-111 в концентрации 4 мкг/мл к клеткам статистически значимо не влияет на количество разрывов в эмбриональных фибробластах. Через 24 часа количество разрывов ДНК при действии фуллерена соединений ОКР-111 и ОКР-112 в концентрации 4 мкг/мл не отличается от контрольных значений. Полученные данные подтвердили методом гамма-фокусов с использованием антител к фосфорилированной форме гистона H2AX.

Аналогичные результаты получены нами при исследовании уровня окислительных повреждений ДНК ядер фибробластов при действии на них соединений ОКР-111 и ОКР-112 в концентрации 4 мкг/мл. Через 1 час уровень 8-oxodG (маркера окисления) возрастает в 2 – 2,5 раза при действии соединения ОКР-112 на ФЛЭЧ, через 24 часа падает ниже контроля. Соединение ОКР-111 не влияло на уровень 8-oxodG в клетках.

Таким образом, несмотря на то, что формулы соединений идентичны, показали, что структурные изомеры водорастворимых производных фуллерена могут оказывать разное воздействие на клетки.