Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Институт биологии и биомедицины

# «БИОСИСТЕМЫ: организация, поведение, управление»

76-я Всероссийская школа-конференция молодых ученых

***Тезисы докладов***
***(Нижний Новгород, 11–14 апреля 2023 г.)***

Нижний Новгород
2023

УДК 573.6(063); 61:004(063)

ББК Е.с21я431
Б 63

Б 63 **Биосистемы: организация, поведение, управление**: Тезисы докладов 76-й Всероссийской школы-конференции молодых ученых (Н. Новгород, 11–14 апреля 2023 г.). Н. Новгород, Университет Лобачевского. 2023. 383 с.

Тезисы докладов 76-й школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» охватывают широкий спектр направлений современной биологии: биоразнообразие, биомониторинг и устойчивое развитие экосистем, физиологию растений и агротехнологии, физиологию человека и животных, молекулярную биологию, нанобиотехнологии, биохимию, биофизику, биоинформатику, фундаментальную медицину. Основной целью конференции является привлечение студентов и аспирантов к исследовательской и проектной деятельности в научно-технической сфере.

*Проведение школы-конференции поддержано Министерством науки и высшего образования РФ, Соглашение № 075-15-2022-293 от 15.04.2022 г (грант о создании и развитии научного центра мирового уровня "Центр фотоники").*

ISBN: 978-5-91326-795-5
ББК Е.с21я431
УДК 573.6(063); 61:004(063)

© Нижегородский госуниверситет
им. Н.И. Лобачевского, 2023

## ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

М.В. Ведунова председатель, директор ИББМ, д.б.н.
И.В. Балалаева заместитель председателя, доц., к.б.н.
А.Д. Поспелов заместитель председателя
Ю.В. Синицына заместитель председателя, доц., к.б.н.

Е.В. Березина (к.б.н), А.А. Брилкина (доц., к.б.н.), В.А. Воденеев (доц., д.б.н.), С.Д. Гефтер, А.А. Горохова, А.В. Дерюгина (доц., д.б.н.), В.А. Зрянин (к.б.н.), М.Ю. Карпушин, О.Л. Копылова, В.В. Стростенко, М.Н. Таламанова (к.б.н.), М.Г. Тюрина

## ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

М.В. Ведунова председатель, директор ИББМ, д.б.н.
В.А. Воденеев заместитель председателя, доц., д.б.н.

И.В. Балалаева (доц., к.б.н., ННГУ), А.А. Брилкина (доц., к.б.н., ННГУ), Воденеева Е.Л. (доц., к.б.н., ННГУ), С.В. Гудков (д.б.н., ИОФ РАН), С.М. Деев (академик РАН, д.б.н., проф., ИБХ РАН), А.В. Дерюгина (доц., д.б.н., ННГУ), А.В. Звягин (д.б.н., Сеченовский университет), В.А. Зрянин (к.б.н., ННГУ), М.В. Иванченко (проф., д.ф.-м.н., ННГУ), В.Б. Казанцев (доц., д.ф.-м.н., ННГУ), Г.А. Кравченко (к.б.н., ННГУ), Д.В. Крысько (PHD, Гентский ун-т, Бельгия), Б.С. Мельник (д.ф.-м.н., ИБ РАН), В.В. Новиков (проф., д.б.н., ННГУ), И.П. Иванова (д.б.н., ННГУ), А.Г. Охапкин (проф., д.б.н., ННГУ), Е.Б. Романова (д.б.н., ННГУ), Ю.В. Синицына (к.б.н., ННГУ), М.А. Сироткина (к.б.н., ПИМУ), К. Франчески (проф., Болонский ун-т, Италия), С.Н. Цыбусов (проф., д.м.н., ННГУ), Н.Ю. Шилягина (к.б.н., ННГУ), В.Н. Якимов (доц., д.б.н., ННГУ)

# ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ЛОКАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ОСВЕЩЕНИЯ И ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ГЕНЕРАЦИЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ И ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

***К. Р. Абашева*[*], *А. Ю. Попова, Е. М. Сухова, Ю. А. Золин, К. В. Гребнева, В. С. Сухов, Л. М. Юдина***

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*karinarutter@yandex.ru*

Известно, что различные локальные воздействия могут приводить к генерации и распространению электрических сигналов, способных влиять на показатели фотосинтеза, адаптацию растений и продуктивность. Обычно анализируется влияние электрических сигналов, возникающих в ответ на одиночный фактор. Однако, в естественных условиях на растения одновременно влияет совокупность умеренных стрессоров, которые могут дополнять действие друг друга. Целью работы стало изучение возможности генерации и параметров электрических сигналов при действии комбинации локального освещения и нагрева в условиях полива и почвенной засухи.

В качестве объектов исследования использовались двухнедельные проростки яровой пшеницы, которые выращивались на почвенном субстрате при 24°C и 16-часовом световом дне. Для контрольных растений производили систематический полив, а для создания почвенной засухи полив прекращался. Для индукции электрических сигналов на лист растения локально воздействовали синим светом и повышенной температурой. Для измерения поверхностных электрических сигналов использовали хлорсеребряные макроэлектроды. Измерительные электроды располагались на разных расстояниях от зоны воздействия, электрод сравнения располагался у основания побега пшеницы. Изменение параметров фотосинтеза проводилось с использованием PAM-флуориметра, расчет индекса проводимости устьиц осуществлялся с помощью тепловизора.

Было выявлено, что при комбинированном действии стрессоров вблизи зоны воздействия возникала деполяризация, на отдалении сменяющаяся гиперполяризацией. Предположительно, эти сигналы можно отнести к системным потенциалам. При воздействии на растения только светом наблюдался слабый сигнал гиперполяризации, а при одиночном нагревании – сигнал, близкий к индуцированным комбинацией стрессоров. Сильная почвенная засуха подавляла гиперполяризационные сигналы, вызванные комбинацией света и нагрева. Кроме того, показано, что локальное освещение, вызывает лишь низкоамплитудные сигналы, что не приводит к возникновению фотосинтетических изменений, а локальный нагрев или комбинация стрессоров вызывают более выраженные электрические сигналы, которые влияют на фотосинтез.

Таким образом, воздействие светом и повышенной температурой может приводить к распространению гиперполяризационного электрического сигнала, который по своим параметрам схож с системным потенциалом и может быть ключевым фактором в формировании адаптаций у высших растений к действию стрессоров в естественных условиях, однако данное предположение требует дальнейшего экспериментального изучения.

*Работа поддержана грантом РНФ № 21-74-10088.*

[*] Здесь и далее подчеркнуты Ф.И.О. докладчиков в случае двух и более авторов.

# АНАЛИЗ ИСТОЧНИКОВ АТМОСФЕРНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОМОНИТОРИНГА МХА В КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ, РОССИЯ

***Ш. Ф. Абдо*, Ю. В. Королева**

Балтийский Федеральный университет им. И. Канта, 236041, Россия, Калининград, ул. Александра Невского, 14; *abdosheyar@gmail.com*

Исследование биомониторинга с использованием видов мхов *[H.splendens и P.Schreberi]* было проведено на всей территории Калининградской области в 2020 году с целью оценки атмосферных выпадений следующих элементов: Na, K, Mg, Mn, Fe, Ti, Al, V, Cr, Ni, As, Co, Mo и Sc. Кроме того, распределение микроэлементов по источникам было исследовано с помощью рецепторной модели (Positive Matrix Factorization PMF). PMF-анализ позволил получить четыре потенциальных факторов источника, которые были определены как: промышленные выбросы ($F_1$), морской аэрозоль ($F_2$), минеральная пыль ($F_3$), и источник с высоким содержанием Mn ($F_4$).

Фактор 1 представлен элементами, связанными с загрязнением, такими как Co (68%), Fe (52%) Ni (42%), Cr (38%), V (39%) и Sc (52%). Эти элементы являются антропогенными, на основании исследований загрязнения Ni, Cr и Co было сделано предположение, что они происходят от электростанций, работающих на угле, гальванических заводов, выплавки металлов. Ni и V являются индикаторами сжигания сырой нефти и нефтехимической переработки. Этот фактор можно отнести к трансграничному загрязнению. Фактор 2 идентифицируется как морской аэрозоль и характеризуется высоким содержанием Na (60%), Mg (45%), K (40%) и Mo (37%). Фактор 3 идентифицирован как минеральная пыль, представляющая собой вклад земной коры, и характеризуется высоким процентным содержанием Ti (71.5%), Al (51.5%) и Sc (33%). Этот источник также характеризуется высоким содержанием Cr и Ni, которые, вероятно, связаны с повторно взвешенной дорожной пылью. Фактор 4 – это фактор с преобладанием Mn (70%), который, как мы предполагаем, связан с разложением растительных организмов, в дополнение к горнодобывающей деятельности и промышленным отходам.

Можно сделать вывод, что наибольший вклад в концентрацию элементов, обнаруженных во мхах, внесли промышленные источники, идентифицированные PMF, - 36,7%, за которыми следуют минеральная пыль и морской аэрозоль - 25% и 23%, соответственно.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА PAM-ФЛУОРИМЕТРИИ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ НАКОПЛЕНИЯ БИОМАССЫ У ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

***Ф. Ф. Абдуллаев*, Ю. А. Немцова, Я. А. Ветрова, В. А. Воденеев, О. Н. Шерстнева**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*abdullaev.aab@mail.ru*

Для ускорения и повышения эффективности селекции сельскохозяйственных растений перспективным представляется включение в процесс отбора дополнительных стадий, в частности лабораторного фенотипирования, которое позволит сократить количество генотипов, направляемых на последующие более длительные и дорогостоящие испытания.

Целью исследования стал поиск показателей флуоресценции хлорофилла, способных выступать в качестве предикторов накопления биомассы пшеницы.

Объектом исследования служили растения пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) яровой, которые выращивались в контролируемых условиях (24 ºС, фотопериод – 16/8 ч). В возрасте 14 дней у проростков пшеницы 11 сортов оценивались параметры флуоресценции хлорофилла с использованием систем PAM-имиджинга Plant Explorer Pro (Phenovation B.V., Нидерланды) и Open FluorCam FC 800-O/1010-S (Photon Systems Instruments, Чехия), после чего анализировались количественные показатели временных динамик квантового выхода фотохимии фотосистемы II ($\Phi_{PSII}$) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ). В качестве показателя, отражающего фотосинтетическую продуктивность пшеницы, в возрасте 28 дней оценивалась величина сухого веса проростков. Для оценки потенциала использования анализируемых флуоресцентных параметров в качестве предикторов фотосинтетической продуктивности проводился корреляционный анализ их связи с накоплением сухого веса через 14 дней после регистрации флуоресценции.

Была показана значимая ($p < 0,05$) отрицательная корреляция величины накопленной биомассы со временем полувыхода на стационарный уровень $\Phi_{PSII}$ ($r = –0,63$) и временем достижения максимального уровня NPQ ($r = –0,66$) после включения актиничного света. Помимо этого, была показана положительная корреляция сухого веса с уровнем $\Phi_{PSII}$, регистрируемого через 60 секунд после включения актиничного света ($r = 0,66$, $p < 0,05$). Стоит отметить, что все эти параметры характеризуют переходные процессы в фотосинтетическом аппарате при колебаниях уровня освещения, отражая скорость восстановления фотосинтетической активности при включении света и способность к более интенсивному накоплению биомассы. При этом флуоресцентные параметры, отражающие фотосинтетическую активность исследуемых растений в светоадаптированном состоянии, не показали значимой корреляции с фотосинтетической продуктивностью.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования параметров флуоресценции хлорофилла для предсказания накопления биомассы в лабораторных условиях.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России проекта «Хлеба России» по соглашению № 075-15-2021-1066 от 28.09.2021 г.*

# КОНСТРУИРОВАНИЕ ГЕТЕРОТИПИЧЕСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ 3D-МОДЕЛИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ МЕЖКЛЕТОЧНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ОПУХОЛИ

***М. М. Абдурахманова*[1], *А. А. Леонтьева*[1], *С. П. Зверева*[1], *Т. Н. Беловежец*[2], *С. В. Кулемзин*[2], *О. А. Коваль*[1], *В. А. Рихтер*[1], *А. А. Нуштаева*[1]**

[1]Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8; *m.abdurakhmanova98@gmail.com*

[2]Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

В классической двумерной (2D) клеточной модели отсутствует тканеподобная архитектура, градиенты кислорода и питательных веществ. Трехмерная (3D) клеточная модель способна восполнить недостатки 2D-модели и воспроизвести межклеточные взаимодействия в опухоли, а конструирование 3D-модели (сфероид) на основе гистологически различных клеток – ее микроокружение. Мы разработали гетеротипическую 3D-3 клеточную модель, состоящую из трех типов клеток, для оценки взаимодействия опухолевых клеток с клетками микроокружения.

Для получения 3D-3 моделей РМЖ в качестве опухолевого компонента были выбраны культуры клеток линий MCF7, MDA-MB-231 и SK-BR-3, в качестве стромального компонента – персональная культура фибробластов BN120f, а в качестве иммунного компонента – линия NK-подобных клеток YT. Сфероиды получали на субстрате из природных гидрогелей (2%-желатин, 2%-агароза, Matrigel™) или на низкоадгезивном пластике (Nunclon™ Sphera™).

Культивирование проводили в режиме:

1) моно-культивирования (3D) только опухолевых клеток или только фибробластов;

2) со-культивирования опухолевых и стромальных клеток (3D-2);

3) со-культивирования опухолевых, стромальных и иммунных клеток (3D-3).

Использование 2%-желатина не позволило сформировать сфероиды ни из одной из использованных культур клеток. 3D-модели из фибробластов были получены на субстрате из 2%-агарозы, а из опухолевых клеток – на Matrigel™. Использование низкоадгезивного пластика NunclonTM SpheraTM в комбинации со средой DMEM/F12 с ростовыми факторами позволило получить 3D-3-модель РМЖ (Нуштаева и др., 2022).

Для визуализации трех типов клеток в совместной 3D-3 модели были получены опухолевые клетки, стабильно экспрессирующие красный флуресцентный белок mKate2, стромальные клетки, стабильно экспрессирующие зеленый флуоресцентный белок eGFP и NK-клетки, экспрессирующие синий флуоресцентный белок BFP.

В результате было показано, что стромальные клетки формировали внутренний каркас 3D-2 клеточных моделей, а опухолевые клетки – их внешний слой, имитируя начальные этапы развития карциномы.

Для оценки проникновения NK-клеток в опухолево-стромальные сфероиды были приготовлены «раздавленные» препараты. Стромальные клетки привлекали NK-клетки внутрь 3D-2 модели из клеток MDA-MB-231, усиливая их цитотоксическую активность, в сравнении с 3D-моделью. В 3D-3 модели из клеток MCF-7, NK-клетки локализовались рядом с популяцией стромальных клеток, без проявления киллерной активности. Проникновение NK-клеток в опухолево-стромальные сфероиды из клеток SK-BR-3 происходило менее эффективно, в связи с крупными размерами сфероидов.

Таким образом, были сконструированы гетеротипические трехмерные (3D) клеточные модели рака молочной железы, востребованные для исследования межклеточного взаимодействия в опухоли.

*Исследование поддержано грантом РНФ № 20–74–10039.*

# ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА TNF НА СЕРОТОНИНОВУЮ СИСТЕМУ МОЗГА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

***С. Н. Адонина*[1], *А. К. Скотникова*[2], *Е. А. Куликова*[1], *Д. В.Базовкина*[1]**

[1]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10;

[2]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

*sveta-adonina@yandex.ru*

Многочисленные исследования свидетельствуют о тесном двустороннем взаимодействии между иммунной и центральной нервной (ЦНС) системами. Одним из важных посредников между этими системами является провоспалительный цитокин - фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF). При активации иммунной системы введением бактериального липополисахарида (ЛПС) уровень TNF в организме возрастает. При этом TNF участвует в развитии комплекса нарушений поведения, которое сопровождается изменениями функциональной активности серотониновой (5-НТ) системы мозга.

Целью данной работы было исследование влияния нокаута гена, кодирующего TNF, на поведение и 5-НТ систему мозга у мышей после длительного введения ЛПС.

Использовались самцы мышей линии C57Bl/6 (дикий тип) и линии C57BL/6-Tnf-/- (с нокаутом гена фактора некроза опухоли, TNF KO).

Продолжительное введение ЛПС (250 мкг/кг, i.p., 5 дней) не повлияло на двигательную и исследовательскую активности в тесте «открытое поле», депрессивноподобное поведение в тесте «принудительное плавание», предпочтение нового объекта в тесте «новый объект». Влияние ЛПС достоверно снижало исследовательскую активность в закрытых рукавах у мышей нокаутной линии в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» ($p<0.05$) и значительно ухудшило обучаемость животных в тесте «водный лабиринт Морриса»: у мышей линии TNF KO: показатели обучения у контрольной и опытной групп линии C57BL/6 улучшились на третий и четвертый дни обучения ($p<0.05$). Мыши контрольной группы нокаутной линии уже на второй день успешно находили платформу ($p<0.05$), а мыши TNF KO опытной группы – только на третий ($p<0.01$) и четвертый ($p<0.001$) дни.

Нокаут гена Tnf приводил к повышению уровня мРНК гена Ido1, кодирующего индоламин-2,3-деоксигеназу, ($p<0,05$) во фронтальной коре и снижению уровня мРНК гена Htr2a ($p<0,05$) в среднем мозге. У мышей обеих линий бактериальный эндотоксин не оказал действия на экспрессию ключевых для серотониновой системы мозга генов Htr1a, Htr2a, Htr7, Tph2 и Slc6a4, кодирующих рецепторы 5-HT1A, 5-HT2A, 5-HT7, триптофангидроксилазу 2 и транспортер серотонина, соответственно. Однако, было найдено, что введение ЛПС снижало уровень мРНК гена Ido1 ($p<0,05$), во фронтальной коре самцов линии TNF KO. Нокаут гена Tnf приводил к повышению уровня серотонина во фронтальной коре ($p<0,05$), гиппокампе и среднем мозге. В результате введения бактериального эндотоксина индекс метаболизма серотонина (5-ГИУК/серотонин) повышался для гипоталамуса ($p<0,05$) и среднего мозга ($p<0,05$) только у мышей линии TNF KO.

Полученные данные свидетельствуют о влиянии нокаута гена Tnf на чувствительность животных введению воспалительного агента на уровне поведения и функционирования серотониновой системы.

*Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 21-15-00051).*

# АНАЛИЗ КРИВЫХ ДОЖИТИЯ С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИФАЗНОЙ ЧИСЛЕННОЙ МОДЕЛИ

***А. А. Алексеев***
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1; *alekseev@physics.msu.ru*

В исследовании старения довольно часто рассматриваются кривые дожития, которые показывают уменьшение количества оставшихся животных в эксперименте с течением времени относительно исходного их количества. Для анализа таких кривых применяются методы математической биологии, в частности, теоретические модели Гомертца и Вейбулла. Хотя данные модели имеют развёрнутые математические основания, однако они не позволяют точно описать кривую дожития в ряде случаев, в том числе для данных из базы Human Mortality Database (HMD) и ряда экспериментов на модельных животных.

Нами была поставлена задача описание всего разнообразия кривых смертности для ряда животных различных групп. В качестве первого шага мы взяли данные (кривые дожития) из базы HMD при этом были взяты несколько территориально удалённых стран, и когорты разных лет рождения.

В основу нашей численной модели было положена кусочно-заданная зависимость для коэффициента смертности (КС) от возраста, имеющая 5 фаз, включая фазу высокой смертность после рождения, уменьшение смертности в зрелом возрасте и экспоненциальный рост смертности (с определённого возраста) из-за старения. Модель имеет три параметра, определяющие смертности в начальный момент времени, в минимуме смертности и на «плато» в среднем возрасте. Кроме того, четыре параметра для возрастов перехода между фазами, а также коэффициент в показателе экспоненты. Также в модель добавлена коэффициент «стохастической» смертности, который не зависит от возраста и не связан со старением. Итого, в модели 9 параметров.

В ходе расчётов «запас здоровья» каждого из группы «виртуальных индивидов» снижался, после снижение ниже определённой границы (которая также является параметром модели), для «индивида» фиксировался факт смерти. Таким образом, рассчитывалась вся кривая дожития. Для получения усреднённой кривой данный алгоритм выполнялся итеративно некоторое число раз (оптимальное его знание определено в ходе численных «экспериментов»).

Далее, для каждой рассмотренной кривой проводилась процедура идентификации параметров модели (фиттинг). Вычисления производились с помощью языка программирования R, оптимизационная задача решалась с помощью функции optim, доверительные интервалы для параметров оценивались с помощью процедуры бутстрепа.

Таким образом, были идентифицированы параметры модели для набора кривых дожития людей из базы HMD, и, в целом, показана эффективность многофазного подхода при моделировании кривых дожития. Данный подход мы планируем в дальнейшем использовать для анализа кривых дожития для модельных животных для оценки параметров модели для эффекта «отложенного» старения, и выделения параметров, определяющих величины средней и максимальной продолжительности жизни.

# ДИНАМИКА ЦЕНОФЛОРЫ ПОЙМЕННЫХ СООБЩЕСТВ ПРИ АНТРОПОГЕННОЙ СМЕНЕ ЭДИФИКАТОРА (НА ПРИМЕРЕ ФИТОЦЕНОЗОВ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ (*HIPPOPHAE RHAMNOIDES* L.) И ИВЫ ОСТРОЛИСТНОЙ (*SALIX ACUTIFOLIA* WILLD.) В Г. НИЖНИЙ НОВОГОРОД)

***О. Р. Алилова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*a1i1uyaolga@gmail.com*

В конце XX века садоводами на территории Нижнего Новгорода активно культивировалась *Hippophae rhamnoides* L. Со временем «мода» на это растение прошла и сейчас на садовых участках облепиху можно встретить лишь изредка. Однако за прошедшие годы растение одичало и стало формировать собственные сообщества. Сведения о таких зарослях появились 27 лет назад.

Цель работы: выявление динамики флористического состава пойменных фитоценозов с доминированием одичавшей облепихи, возникших на месте аборигенных сообществ ивы остролистной (вербы), их синтаксономического статуса.

Исследования были выполнены в июле-августе 2021 года, детально-маршрутным методом, с выполнением геоботанических описаний по традиционной методике. Всего было сделано 36 описаний пробных площадей, заложенных в сообществах облепихи и 5 описаний – в фитоценозах ивы остролистной.

Наиболее активно облепиха внедряется на нарушенные участки, для которых характерна ослабленная межвидовая конкуренция, высокая инсоляция, невысокая плотность почв и (нередко) наличие различных водоёмов. Особенно часто вид образует заросли в прирусловой пойме р. Оки. В этих условиях заросли облепихи на значительной территории вытеснили ранее широко распространенные здесь сообщества вербы (*Salix acutifolia* Willd.). Подробно рассматривается видовой состав растений, отмеченных в зарослях *Hippophae rhamnoides* и их опушках в сравнении с таковым аборигенных сообществ вербы. Видовой состав стал богаче несмотря на то, что некоторые виды выпали из состава сообществ (*Odontites vulgaris* L., *Plantago major* L., *Galium boreale* L.). Сейчас облепиха довольно широко распространена в городе и продолжает появляться на все новых территориях. Составлен конспект, насчитывающий 68 видов высших сосудистых растений из 26 семейств и 57 родов. Самыми крупными по численности видов являются семейства Asteraceae (17 видов), Poaceae (10), Fabaceae (7) и роды *Artemisia* (4 вида), *Trifolium* (3). Эколого-ценотический анализ выявил преобладание сорно-луговых (29%) и луговых (21%) видов в сообществах ивы, луговых (22%) и сорных (20%) в сообществах облепихи. Отмечено широкое участие евроазиатских и циркумполярных видов.

Изученные фитоценозы с доминированием облепихи принадлежат к следующим дериватным сообществам: *Hippophae rhamnoides* [*Agrostio vinealis-Salicion acutifoliaea*], *Hippophae rhamnoides – Acer negundo* [*Molinio-Arrenatheretea – Artemisietea vulgaris*], *Hippophae rhamnoides – Acer negundo* [*Artemisietea vulgaris*], *Hippophae rhamnoides* [*Artemisietea vulgaris*]. Сообщества с доминированием ивы принадлежат к acc. Agrostio tenuis-Salicetum acutifolia ass.nov. союза *Agrostio vinealis-Salicion acutifoliae* Bulokhov 2005.

# МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЖЕЛЕЗИСТЫХ ТРИХОМ ЭПИДЕРМИСА *STACHYS SYLVATICA* (LAMIACEAE)

***А. Алшиха*, Н. Б. Прохоренко, Г. В. Демина, О. А. Тимофеева**
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*abdallatif.sh91@gmail.com*

Метаболиты, продуцируемые железистыми трихомами лекарственных растений, имеют психоактивные, противопаразитарные, антимикробные, противовирусные, противоопухолевые и антитромботические свойства и используются в фармацевтической промышленности. Наличие различных типов трихом – важный диагностический признак растений, который используется для разграничения видов, родов и даже семейств.

Задача настоящего исследования – провести сравнительный морфологический и количественный микроскопический анализ секреторных структур эпидермы вегетативных и генеративных органов *Stachys sylvatica* (Lamiaceae).

Наблюдения осуществляли на микроскопе Axio lab.A1 (Carl Zeiss, Germany в светлом поле и с флуоресцентным фильтром. Измерение трихом производили в программе ZEN 3.1 (Carl Zeiss). Плотность железистых трихом определяли на площади 1 мм$^2$ изучаемых органов растений. Статистическую обработку проводили в программе Microsoft Excel.

Наши морфологические исследования показали, что в эпидерме *Stachys sylvatica* формируются секреторные трихомы, которые можно сгруппировать следующим образом по типам. Тип c1 состоит из одной базальной клетки, короткой одноклеточной ножки и головки из четырех секреторных клеток; локализуются на обеих сторонах листьев, стебле и чашелистиках. Тип c2 – длинные головчатые трихомы; они состоят из базальной клетки, клетки ножки, кутинизированной клетки-шейки и головки из двух, реже из 4-х секреторных клеток; локализуются на абаксиальной стороне листьев, стебле и чашелистиках. Тип c3 – длинные головчатые трихомы. Они состоят из длинной ножки из двух или более клеток, кутинизированной клетки-шейки и головки, образованной шестью секреторными клетками; локализуются в эпидерме чашелистиков.

По нашим данным головчатые трихомы (c1) характеризуются самыми маленькими размерами головки, которая в среднем составляет на разных органах 22.8 до 29.7 мкм. Средняя длина трихом c1 находится в пределах 30.6–51.1 мкм в составе разных органов. Диаметр головки и длина коротких головчатых трихом (c2) в 1.9 раз больше, чем у трихома c1. Длинные головчатые трихомы c3, которые развиваются только на чашелистиках, характеризуются самыми большими значениями диаметра (40.7 мкм) и длины (337.8 мкм). Оценка количества головчатых трихом показала, что у *Stachys sylvatica* наибольшая плотность характерна для маленьких головчатых трихом (c1) на чашелистиках, где она составляет в среднем 40.3 шт/1 мм$^2$. Плотность железистых трихом типов c2 и c3 составляет в среднем от 10.8 шт/1 мм$^2$ на стебле до 18.6 шт/1 мм$^2$ на абаксиальной стороне листьев. На адаксиальной стороне листа *Stachys sylvatica* трихомы c1 встречаются преимущественно по жилкам, их плотность составляет менее 5 шт/1 мм$^2$.

*Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).*

# THE EFFECT OF SUBSTRATES OF VARIOUS ORIGINS ON THE GERMINATION OF *RHODIOLA ROSEA* SEEDS UNDER HYDROPONIC CONDITIONS

***Elohor-Oghene Amarie*, *A. V. Chshukina*, *C. V. Tulkevich***
Tomsk State University, 634050, Tomsk, Lenina Ave., 36;
*amarieelohor@stud.tsu.ru*

In connection with total urbanization and climate change, the transition to alternative methods of growing crops is becoming increasingly important. Currently, many crops are grown using hydroponics, which allows year-round harvesting. However, the industry of alternative cultivation of medicinal plants is underdeveloped, as they require an individual integrated approach in the development of cultivation technologies.

The selection of a suitable substrate for growing crops on hydroponics is one of the main stages in the development of cultivation technology.

The aim of this study is to isolate a promising substrate for *Rhodiola rosea* cultivation using the hydroponics method.

During the study, the organic substrates used were: peat, and jute while the inorganic substrates were: foam glass, and perlite. The seed material was obtained from reproductions of SibBS TSU, previously disinfected with 3% peroxide for 10 minutes and stimulated with gibberellic acid for 3 hours.

As a result of the study, a significantly different germination reaction of *Rh. rosea* was revealed on various substrates. The germination rate when using peat as a substrate was 75%, and jute – 29%. At the same time, the substrates of inorganic origin do not differ significantly from each other: foam glass – 63%, perlite – 62%.

It should be noted that the use of organic substrates increases the risk of damage to the cultivated crops by pathogens and pests. At the time of determining the germination of *Rh. rosea*, on the studied organic substrates, the formation of indeterminate mold fungi was recorded.

From the results obtained, three promising substrates for *Rh. rosea* cultivation can be distinguished by hydroponics method: peat, foam glass and perlite. However, since this culture is medicinal, it is necessary to conduct several chemical analyses to determine the content of biologically active substances, as well as the content of toxic substances.

# ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА IL-28B В ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С

***Д. Д. Антонова*[1], *А. В. Полянина*[2], *Г. А. Кравченко*[1]**
[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *add.nn@bk.ru*
[2]Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Гепатит С входит в число социально значимых инфекционных заболеваний и является причиной хронической болезни печени. По оценкам ВОЗ, в мире 170 млн. людей инфицированы ВГС. Известно, что полиморфизм гена IL-28B является объектом прицельного изучения во взаимосвязи с вирусом гепатита С. Целью работы явилось изучение влияния полиморфизмов гена IL-28B на возникновение и течение вирусного гепатита С.

Материалом исследования полиморфизмов гена IL-28B у больных хроническим гепатитом С послужили 267 образцов сывороток крови пациентов многопрофильных стационаров г. Нижнего Новгорода.

Выявление антител к ВГС проводили методом ИФА, использовались коммерческие тест-системы «Бест анти-ВГС» («Вектор-Бест», Новосибирск). Выделение нуклеиновой кислоты проводилось с помощью набора «АмплиСенс МАГНО-сорб» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва). Позитивные на антитела образцы проверяли на наличие РНК вируса методом ПЦР с использованием набора «АмплиСенс HCV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва). Процесс генотипирования ВГС осуществляется методом аллель-специфической ПЦР на тест-системе «АмплиСенс HCV-генотип-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия). Генетические полиморфизмы по локусам rs12979860 и rs8099917 гена IL-28B определяли с использованием набора «АмплиСенс Геноскрин IL-28B-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва).

Для сравнения исследуемых образцов выделяли три группы лиц: РНК ВГС-позитивные, РНК ВГС-негативные и анти-ВГС-негативные пациенты. Локус rs8099917: частота аллеля G в группе анти-ВГС-негативных лиц составила 33,0±5,7%, что превышает тот же показатель в других группах – 10,2±5,9% (РНК ВГС-негативные лица) и 21,5±5,2% (РНК ВГС-позитивные лица). Различия между данными показателями статистически достоверны ($\chi^2$=9.92; p<0.006), значит гуанин является «аллелем риска». Локус rs12979860: аллель Т в rs12979860 является «аллелем риска», он обнаружен в 70,6±4,5% РНК ВГС-положительных пробах. В группе условно здорового населения (отрицательны на антитела к ВГС) доля аллеля Т составила 67,0±7,6%, в группе РНК ВГС-негативных пациентов – 38,6±6,3%. Различия в частоте определения аллеля риска Т в сравниваемых группах статистически достоверны ($\chi^2$ =18.433, p<0,001). У обследованных с генотипом СС (благоприятный генотип) РНК не обнаружена в 61,2±7,0%, что примерно в 3 раза больше, чем у генотипа СТ – 22,4±4,7% или ТТ – 16,2±5,3% ($\chi^2$=18.433, p=0,001). Такое отсутствие аллеля Т ассоциировано со спонтанным разрешением инфекции и большей вероятностью достижения устойчивого вирусологического ответа на терапию. Определение данных генетических вариаций наиболее ценно для пациентов с генотипом 1b и 3a ВГС, что связано с их значительной распространённостью относительно других. Зависимости между частотой встречаемости того или иного генотипа и субтипа ВГС не обнаружено.

# ВЛИЯНИЕ МОНО-КВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ И ОЧЕНЬ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПРОСТАТИТОМ

***А. И. Ануфриева*, А. А. Казаков, С. В. Копылова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*anufrieva.9999@mail.ru*

Хронический простатит относится к числу наиболее часто встречающихся болезней мочеполовых органов у мужчин. В настоящее время большинство специалистов рассматривают хронический простатит как воспалительное заболевание инфекционного генеза с возможным присоединением аутоиммунных нарушений, характеризующееся поражением как паренхиматозной, так и интерстициальной ткани предстательной железы.

Недостаточная эффективность терапии и частые рецидивы обусловлены сложным патогенезом этого заболевания, при котором воспалительный процесс не всегда сопровождается клиническими проявлениями. Многие консервативные, в том числе медикаментозные, методы лечения простатита не дают желаемой результативности. В настоящее время растет интерес к физиотерапевтическому лечению данного заболевания, поскольку физические методы по терапевтической эффективности не уступают фармакотерапии. В настоящее время среди известных в медицине методов неспецифического активационного воздействия приоритетное место по праву принадлежит КВЧ-терапии, которая может стать важной составляющей консервативного лечения больных хроническим простатитом.

Целью работы являлось изучение влияния моно-КВЧ-излучения на содержание липопротеинов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП) в плазме крови крыс больных хроническим простатитом.

Исследования проводились на 39 белых лабораторных крысах-самцах, разделенных на 3 группы: интактная (n=13); контрольная (n=13); опытная (n=13). Моделирование хронического простатита осуществлялось путем введения раздражителя (смесь на основе 10%-ного раствора димексида в воде и скипедара в объемном соотношении 4:1) в верхний отдел прямой кишки на глубину 20-25 мм в количестве 0,75 – 1,25 мл. В опытной группе лечение проводилось с помощью аппарата КВЧ «СЕМ ТЕСН» (Россия), с частотой электромагнитного излучения 1000 Гц. Аппликатор аппарата КВЧ накладывался на область малого таза, курс лечения составлял 15 процедур по 10 минут. Кровь забиралась для исследования на 5-ые, 10-ые, 15-ые, 20-ые сутки от начала эксперимента из подъязычной вены.

Было установлено, что концентрация ЛПНП и ЛПОНП в плазме крови крыс контрольной группы на протяжении всего эксперимента была повышена в среднем на 78% по сравнению с интактной группой.

Уровень ЛПНП и ЛПОНП в плазме крови крыс группы «опыт» на 5-ые и 10-ые сутки был выше на 26% по сравнению с интактной группой. В дальнейшем, к 20-ым суткам, результаты стали сопоставимы с таковыми в интактной группе.

Таким образом, можно предположить, что КВЧ-излучение снижало активность воспалительного процесса в предстательной железе у крыс, что приводило к нормализации состояния липидного обмена и восстановлению структуры органа.

# ОПТИМИЗАЦИЯ КОДОННОГО СОСТАВА ГЕНОВ *ESCHERICHIA COLI* С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ ГЛУБОКОГО МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ И НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ

***Б. Д. Артеага***
Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*davidartm26@gmail.com*

В данной работе были использованы два разных типа нейронных сетей для оптимизации состава кодонов *Escherichia coli,* ProtGTP2 и ProtBERT. Архитектура GPT (Generative Pre-Trained) использует глубокую нейронную сеть, конкретно трансформированную модель, которая использует внимание или механизм внимания вместо предыдущих архитектур, основанных на свёрточной и рекуррентной. Механизмы внимания позволяют модели селективно фокусироваться на сегментах входного текста. Эта модель позволяет значительно увеличить параллелизацию и превосходить предыдущие бенчмарков для моделей основанных на RNN / CNN / и LSTM.

Архитектура BERT (Bidirectional Encoder Representations from Transformers) была разработана для предварительной подготовки глубоких двунаправленных представлений из немаркированного текста и, оказалось эффективна для улучшения задач, заданных в NLP, также возможна точная настройка, создающая дополнительный выходной уровень без существенных изменений в его архитектуре.

Модели были обучены на основе NLP как ProtGPT-2, получая на вход последовательность аминокислот, которая может быть целевым геном, желаемым для экспрессии в организме-хозяине, в данном случае в *E. coli*, и генерируя на выходе наиболее вероятные последовательности нуклеотидов с оптимальными кодонами, которые соответствуют данному входу. Однако, тестируя данные модели с различными входными контекстами, стало понятно, что наилучшие выходные последовательности будут получены при использовании входа, соответствующего обучающему контексту модели.

В обученных моделях, перплексия является обратно пропорциональной количеству образцов в валидационном наборе, указывая на то, что чем больше у нас информации о последовательностях слов, тем меньше перплексия будет показана в модели. Вторая модель, обученная с большим контекстом, была моделью с меньшей перплексию и в итоге с лучшими сгенерированными последовательностями.

Также было установлено, что перплексия может быть использована в качестве параметра для выбора лучшей сгенерированных последовательностей данных моделей, так как этот параметр часто используется в моделях NLP в качестве меры перекрёстной энтропии. Таким образом, на выходе выбираются те последовательности, которые имеют наименьшую перплексия, указывая на то, что эти последовательности лучше всего соответствуют реальным данным или энтропии.

Генерация оптимальных нуклеотидных последовательностей коррелирует с контекстом обученной модели. Чем больше контекст во время обучения, тем лучше генерируются нуклеотидные последовательности с оптимальными кодонами. Самые лучшие последовательности во многих примерах показывают, что модель предпочитает использовать наиболее часто встречающиеся кодоны в последовательностях *E. coli*, вместо тех, у которых частота использования кодонов ниже.

# ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК

***В. С. Асманкина*, *К. М. Фиайос Барриону́эво*, *И. П. Иванова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*VasilinaAsmankina@mail.ru*

За последнее десятилетие значительно возрос интерес к изучению влияния различных физических и химических факторов на структуру, функции и метаболизм клеток, в том числе клеток крови и опухоли. Физические факторы, такие как ультрафиолет и газоразрядная плазма, обладают мембранотоксическим эффектом по отношению к клеткам. Под их воздействием происходят морфологические и молекулярные перестройки, усиление процессов перекисного окисления и изменение фракционного состава липидной фазы биологических мембран. В связи с этим исследование мембранотоксических свойств различных физических и химических факторов на сегодняшний день очень актуально и имеет важное значение для торможения пролиферации и роста опухолевых клеток.

Целью данной работы явилось изучение влияния физических факторов на жизнеспособность клеток, в том числе эритроцитов.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи: 1) изучить влияние времени хранения (1 и 2 сутки) на количество клеток селезенки, печени, опухоли и лимфоцитов крысы с опухолью RS-1; 2) исследовать интенсивность гемолиза различных объемов клеток крови после воздействия ультрафиолетовым облучателем и газоразрядной плазмой ИР-50 различными временными режимами.

Материалом исследования служила крыса с опухолью RS-1, коммерческая человеческая кровь группы II (A), резус-положительная. С использованием камеры Горяева было подсчитано количество клеток на первый и второй день после забоя крысы. Человеческую кровь разводили в 1000 раз физиологическим раствором. Пробы разного объема подвергали воздействию следующих физических факторов: ультрафиолетовый облучатель «Солнышко» и газоразрядная плазма ИР-50 в течение 30 сек – 10 мин. Количество клеток также подсчитывали в камере Горяева.

В ходе работы была выявлена тенденция к снижению количества клеток при увеличении времени их хранения. Было установлено, что при увеличении времени обработки ультрафиолетовым облучателем и газоразрядной плазмой ИР-50 количество эритроцитов уменьшается. Также было обнаружено, что при уменьшении объема исследуемой пробы количество клеток также уменьшается.

# ВЛИЯНИЕ СВЕРХСЛАБОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ

***Е. А. Ашутова*, В. М. Кощеева, О. А. Ворохобова, Н. С. Мшенская, Е. А. Кальясова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*ekaterina.ashutova@yandex.ru*

Живые организмы постоянно подвергаются воздействию природного геомагнитного поля Земли. Одной из составляющих этого поля является Шумановский резонанс, который представляет собой стоячие электромагнитные волны низких и сверхнизких частот (7,8 Гц; 14,3 Гц; 20,8 Гц и т.д.), колеблющиеся между поверхностью Земли и ионосферой. Результаты исследования воздействия магнитного поля свидетельствуют, что оно является одним из физических факторов окружающей среды, способным оказывать биологические эффекты. Целью данного исследования было изучение влияния кратковременного воздействия магнитных полей с частотами резонанса Шумана на содержание продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида и суммы гидропероксидов), активность ферментов антиоксидантной системы и изоферментный состав супероксиддисмутазы (СОД) в растениях пшеницы.

Объектом исследования являлись 18-дневные растения пшеницы мягкой яровой (*Triticum aestevium* L.) сорта Злата. Растения делили на 2 группы: опытную и контрольную. Опытные растения подвергались 30-минутному воздействию магнитного поля с частотами 7,8 Гц; 14,3 Гц; 20,8 Гц магнитной индукции 18 мкТл. Контрольная же группа помещалась в аналогичные условия вне воздействия магнитного поля. Установка для обработки растений переменным магнитным полем состояла из колец Гельмгольца и источника тока. После окончания экспозиции определяли активность таких антиоксидантных ферментов, как каталаза и пероксидаза. Также производилось разделение изоформ СОД с помощью метода нативного электрофореза.

Было обнаружено, что при кратковременном воздействии слабых магнитных полей общая активность каталазы и пероксидазы, а также содержание малонового диальдегида и сумма гидропероксидов не изменялись. После оценки изоферментного состава СОД выяснилось, что фракция железосодержащей изоформы СОД уменьшалась относительно контроля в пределах 5-10%.

Таким образом, кратковременное воздействие низкочастотных переменных магнитных полей Шумановского диапазона не оказывали существенного влияния на общую активность ферментов антиоксидантной системы и содержание продуктов перекисного окисления липидов, но были способны оказывать влияние на изоферментный состав супероксиддисмутазы. Возможно, это связано с тем, что хлоропласты, являющиеся органеллами, в которых находится подвергшаяся изменениям фракция СОД, оказались наиболее чувствительны к воздействию магнитных полей данных частот.

*Работа выполнена при финансировании Министерством науки и высшего образования (соглашение № 075-15-2019-1892).*

# ПРОФИЛЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВТОРИЧНЫХ СТРУКТУР ПО ПОЛИПЕПТИДНЫМ ЦЕПЯМ ДОМЕНОВ БЕЛКОВ ОБЩЕЙ ТОПОЛОГИИ

***О. Е. Багрова, К. К. Лапшина, Е. В. Белова***

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1; *o-bagrova@mail.ru*

Функция белка определяется его аминокислотной последовательностью и структурой. Структура может изменяться из-за мутаций в аминокислотах, а может оставаться неизменной в то время, как аминокислотная последовательность накапливает мутации. Считается, что структура белка более консервативна, поскольку с сохранением структуры, сохраняется и функция биополимера. Изучение профиля распределения вторичных структур доменов белков, принадлежащих разным гомологичным группам, но имеющих схожую топологию представляет особый интерес.

В данной работе проведен анализ распределения вторичных структур доменов белков 3 групп из класса с преимущественно альфа-спиральной структурой (Mainly Alpha), обладающих общей архитектурой (Orthogonal Bundle) и топологией (Globin-like) согласно базе данных CATH. Домены белков данной топологии были сгруппированы в 3 группы: глобины (гомологичная группа Globins), фикоцианины (Phycocyanins) и другие глобин-подобные белки (остальные группы данной топологии). Глобины представляют собой гомологичную группу белков. В литературе есть предположения об их возможной эволюционной связи с фикоцианинами. Вторичные структуры белков были получены из базы данных PDB. В подборку для анализа вошли полипептидные цепи, которые полностью покрывают аминокислотные последовательности из UniProt. Проанализированы 213 полипептидных цепей глобинов, 68 цепей фикоцианинов и 10 цепей третьей группы. Группа глобинов также разделена по подгруппам организмов: Opisthokonta (174 цепи), Viridiplantae (12), Bacteria (24). Построены диаграммы распределения вторичных структур полипептидных цепей с помощью алгоритма, реализованного на языках Python и R. Также получены распределения длин полипептидных цепей, длин вторичных структур, количества вторичных структур в цепи.

Полученные диаграммы распределения демонстрируют глобин-подобную складку в группе глобинов. Профиль распределения вторичных структур фикоцианинов ближе к N-концу молекулы имеет схожие с глобинами тенденции спирализации, но не ближе к С-концу. Глобин-подобные белки не демонстрируют общих закономерностей как внутри группы, так и при сравнении с глобинами и фикоцианинами. Корреляционный анализ показал, что глобины Opisthokonta и Viridiplantae больше похожи между собой, нежели с Bacteria. Среди общих закономерностей всех изученных групп отмечено увеличение частоты встречаемости нерегулярных структур по краям полипептидной цепи. Таким образом, белки общей топологии с разными функциями не имеют схожий профиль распределения вторичных структур. Профили гомологичных белков или белков предположительно эволюционно связанных групп схожи, белков эволюционно не связанных различны.

Подобный анализ профилей распределения вторичных структур может пролить свет на механизмы фолдинга и взаимосвязь структуры и функции белков.

*Багрова О.Е. является стипендиатом Фонда развития теоретической физики и математики «БАЗИС» (№ 22-2-1-100-1).*

# ГЛУТАТИОН И ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫЕ ФЕРМЕНТЫ ПРИ ГЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

***Д. М. Баданина*[1], *К. Н. Конторщикова*[1, 2], *Л. М. Обухова*[2]**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Головной мозг потребляет около 20% кислорода организма, что приводит к непрерывному производству активных форм кислорода, избыток которых запускает трансформацию ткани. В защите клеток от свободнорадикального окисления важную роль играет система глутатиона, основными индикаторными показателями которой являются: концентрации окисленной и восстановленной формы трипептида; содержание ферментов метаболизма глутатиона - глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы.

Целью работы явилась оценка параметров обмена глутатиона в глиомах различной степени анаплазии. В исследовании использовали послеоперационный материал 20 пациентов с глиомами разной степени анаплазии до проведения противоопухолевой терапии. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава РФ (№6 от 17.04.2019 г.). Измерение концентрации окисленной и восстановленной формы глутатиона проводили колориметрическим методом в соответствии с протоколом the Quantification kit for oxidized and reduced glutathione, концентрация ферментов – «сэндвич»-методом иммуноферментного анализа. Количество ферментов пересчитывали на 1 г белка. Статистическую обработку проводили в программе StatPlus 6 с использованием пакета AnalystSoftInc. Результаты представляли в виде медианы и квартилей, достоверность различий оценивали с применением непараметрического U-критерия Манна-Уитни ($p<0.05$).

Уровень окисленного глутатиона в ткани перитуморальной зоны снижался от Grade I к Grade IV более чем в 1,5 раза, что отмечалось и в опухолевой ткани. То же самое отмечается при анализе уровней восстановленной формы молекулы. Концентрация глутатионпероксидазы возрастала в 3 раза в перитуморальной области и в ткани опухоли по сравнению с интактной тканью при Grade I, а при Grade II, напротив, в опухолевой ткани уменьшалась в 5 раз. При Grade III наблюдалась тенденция к постепенному снижению количества фермента, что при Grade IV установлено достоверно. Примерно те же тенденции отмечаются для глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы.

Таким образом, для высоко- и низкодифференцированных глиом выявлена тенденция к противоположным изменениям исследованных параметров метаболизма глутатиона в перитуморальной зоне по сравнению как с опухолевой тканью, так и с соседними здоровыми тканями, что указывает на её важную роль в прогрессировании опухоли и может служить диагностическим и прогностическим признаком процесса.

# ИМИТАЦИОННЫЕ ТРЕХМЕРНЫЕ МОДЕЛИ В АНАТОМИИ ЧЕЛОВЕКА

***А. С. Баева*, Н. В. Сгибнева, И. Г. Стельникова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*babayka2404@gmail.com*

В настоящее время завершено создание модели грудных позвонков с межпозвоночными дисками и связочным аппаратом на подставке. Решение о создании этой модели было принято в связи с плохим усвоением учебного материала студентами в разделе «Артросиндесмология», особенно в отношении связочного аппарата позвоночного столба. Для создания анатомической модели были использованы компьютерные томограммы позвоночного столба. Сначала три последних грудных позвонка были послойно вырезаны из имеющегося трехмерного изображения с помощью программного пакета Dicom2stl. После удаления всех ненужных было начато моделирование межпозвоночных дисков в программе Meshmixer. Для этого границы диска задавались с нижней стороны тела верхнего позвонка, а высота увеличивалась до получения формы широкого цилиндра. Чтобы межпозвоночный диск повторял рельеф позвонков, нижние позвонки были добавлены заново, а разница была вырезана, в результате чего получился межпозвоночный диск, повторяющий анатомическую форму позвонков. После редактирования внешнего вида модель была перенесена в программу Blender для моделирования связочного аппарата позвоночного столба. После окончательного редактирования каждый элемент трехмерной модели был распечатан на 3D-принтере. Отдельные элементы анатомической конструкции закрепили на опоре-подставке, изготовленной из того же полимерного материала.

Когда модели использовались на практических занятиях по анатомии человека показало, что скорость усвоения учебного материала студентами значительно повысилась. В результате время обучения сократилось в несколько раз и студентам требовалось намного меньше времени на абстрактное распознавание и на зазубривание анатомических образований.

# ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ С КОНТРОЛЕМ УМСТВЕННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

***А. Е. Баженов*[1], *М. Д. Берстнева*[1], *П. П. Анатольевич*[1, 2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*alexeybazhenov10@gmail.com*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Ключевым субстратом контроля поведения человека являются лобные отделы коры больших полушарий. Произвольная деятельность, требующая контроля поведения человека, повышает активацию лобных долей, и, следовательно, увеличивает их кровоснабжение. Особенности пространственного распределения кровотока могут влиять на эффективность произвольной умственной деятельности и самоконтроля. В связи с чем изучение связи пространственной организации кровообращения головного мозга представляет научный и практический интерес. В литературе присутствуют сведения о фронто-мастоидальном градиенте, свидетельствующем о созревании лобных отделов коры в онтогенезе. Более известным в нейрофизиологии явлением является наличие выраженного лобно-затылочного градиента альфа-ритма у взрослых в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами. Для осуществления целенаправленной, произвольной деятельности ожидается гиперфронтальный градиент кровоснабжения мозга во фронто-окципитальной асимметрии.

Цель работы – изучить ряд показателей кровообращения в лобных отделах как потенциальные предикторы эффективности умственной деятельности. Исследования были проведены на 20 добровольцах в возрасте 19-23 лет. Подписано информированное согласие. Испытуемым было предложено выполнить задание на контроль внимания, состоящее из двух частей по 7,5 мин с коротким перерывом между ними. При предъявлении стимульного материала в виде частого значимого (GO – буква Н), незначимого редкого (NOGO – буква И) и незначимого редкого (Novel – различные знаки @, ?, # и др.) символов испытуемые нажимали определенные кнопки. Стимульный материал предъявлялся на мониторе с помощью программы PsychoPy. По результатам выполнения протоколов, испытуемые были поделены на 2 группы: «точные» (ошибка <15%) и «неточные» (ошибка >15%). Одновременно регистрировалась реоэнцефалограмма с помощью реоэнцефалографа «Рео-Спектр». Коэффициент асимметрии мозгового кровообращения в бассейнах внутренних сонных артерий и позвоночных артерий рассчитывали отношением РИ в отведении FM к отведению OM. Значение больше единицы означало преобладание кровотока в лобных отведениях, меньше единицы – в затылочных.

Анализ фронто-окципитального градиента выявил, что у всех испытуемых в состоянии готовности наблюдался гиперфронтальный градиент, однако, в группе «точных» значения были выше в исходном состоянии, а во время выполнения задания градиент уверенно возрастал, с небольшими колебаниями. В группе «неточных» градиент в исходном состоянии был менее выражен, во время выполнения задания градиент вырос, однако так и не достиг значений группы «точные».

Таким образом, уровень кровообращения в лобных областях в случае фронто-окципитального распределения может служить прогностическим показателем эффективности умственной деятельности.

# АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ МУТАЦИИ P.ALA1135FS В ГЕНЕ ATP7B У ИНДИВИДОВ ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

***Р. Р. Байбазаров*[1, 2], *О. Н. Савельева*[2], *А. С. Карунас*[1, 2], *Э. К. Хуснутдинова*[1, 2]**

[1]Башкирский государственный медицинский университет, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

[2]Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, 450054, Уфа, ул. Проспект Октября, 71;

*b_ru@mail.ru*

Болезнь Вильсона-Коновалова представляет собой аутосомно-рецессивное полисистемное заболевание, характеризующееся обширным фенотипическим разнообразием. Распространенность БВК по мировым данным составляет 1–9 случаев на 100 000 населения (в среднем 1 на 30000). В РФ распространенность заболевания находится в диапазоне 2–26 случаев на 1 млн человек (0,2–2,6 на 100 000). БВК встречается в Республике Башкортостан (РБ) с частотой 1 на 119000 населения (0,83 на 100 000). В гене ATP7B (13q14.3), кодирующем медь-транспортирующую АТФазу Р-типа, описано более 1000 разнообразных мутаций, для которых характерны межэтнические различия. Мутация с. 3402delC (p.Ala1135fs), расположенная в 15 экзоне гена ATP7B, входит в тройку наиболее распространенных мутаций при БВК и по официальным данным встречается с частотой около 2,4% среди российских пациентов.

Целью исследования являлось определение частоты встречаемости мутации c.3402delC у пациентов с БВК и в этнических группах практически здоровых индивидов русского, татарского и башкирского происхождения, проживающих в РБ. Материал и методы. В состав исследуемой группы входили пациенты с БВК из 56-ти семей, проживающих в РБ, состоящие на учёте в Республиканском Медико-Генетическом Центре МЗ РБ. В состав контрольной выборки было включено 234 практически здоровых индивидов из РБ (русские - 91, татары - 93, башкиры - 50). Для идентификации мутации c.3402delC (p.Ala1135fs) (rs137853281) использованы методы HRM-анализа и секвенирования по Сэнгеру. Определение частоты гетерозиготного носительства мутации в контрольной группе выполняли методом аллель-специфичной ПЦР в реальном времени.

В данном исследовании установлено, что мутация c.3402delC в общей выборке больных БВК из РБ встречалась с частотой 8,04%, на хромосомах русского происхождения определялась с частотой 5,17%, татарского – 10,00%, башкирского – 13,33%. При поиске мутации c.3402delC среди практически здоровых индивидов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности ни у одного человека данная мутация не была обнаружена. По литературным данным, при мутации c.3402delC происходит нарушение медь-зависимой локализации ATP7B в клеточной линии гепатомы HepG2 при увеличении концентрации меди, что свидетельствует о нарушении выведения меди из гепатоцитов.

Таким образом, в результате исследования установлена частота встречаемости мутации c.3402delC в гене ATP7B у пациентов с БВК, проживающих в РБ, в этнических группах практически здоровых индивидов русского, татарского и башкирского происхождения отмечалось отсутствие гетерозиготного носительства данной мутации.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (№ АААА-А21-121011990119-1), образцы ДНК взяты из Коллекции биологических материалов человека ИБГ УФИЦ РАН (соглашение № 007-030164/2) с использованием оборудования РЦКП «Агидель».*

# ВЛИЯНИЕ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА БИОСИНТЕЗ КАРОТИНОИДОВ В РЕКОМБИНАНТНЫХ БАКТЕРИЯХ *METHYLORUBRUM EXTORQUENS* PCM160

***С. П. Баклагина*, *С. В. Алферов***
Лаборатория экологической и медицинской биотехнологии Тульского государственного университета, 300012, Тула, просп. Ленина, 92; *sofiabaklagina@gmail.com*
НИЦ «БиоХимТех» Тульского государственного университета

Бактерии рода *Methylorubrum* являются розово-пигментированными, из-за присутствия каротиноидов, которые обеспечивают защиту микроорганизмам от повреждения ультрафиолетовым излучением благодаря антиоксидантной активности. По литературным данным, редкоземельные элементы (РЗЭ), находящиеся в ростовой среде, могут увеличивать биосинтез каротиноидов. Таким образом, исследование влияния РЗЭ на синтез каротиноидов представляет особый интерес в биотехнологии.

В качестве объекта исследования выступала биомасса бактерий *M. extorquens* pCM160, выращенных на среде Канеда. Концентрация РЗЭ в среде составляла 20 мкм. С помощью спектрофотометрического метода анализа были построены кривые роста микроорганизмов. Для оценки присутствия каротиноидов, микроорганизмы отбирали в стационарной фазе. Далее проводилось разрушение биомассы. Отобранные клетки, центрифугировали (10000 об/мин, 10 мин), при температуре 4°С, дважды отмывали 0,05 М фосфатным буфером (pH=7,5) с последующим ресуспендированием в том же буфере. Клетки разрушали на ультразвуковом дезинтеграторе при охлаждении льдом, со следующими параметрами: амплитуда 35, 40 минут (с релаксацией 10:10). Для удаления клеточных стенок и получения бесклеточного супернатанта центрифугировали при заданных параметрах 13000 об/мин 30 мин.

Для установления характерных пиков каротиноидов были получены спектральные характеристики бесклеточных супернатантов. Установлено, что у метилобактерий *M. extorquens* с добавлением соли нитрата гадолиния, усиливается биосинтез каротиноидов, так как на спектральной диаграмме был получен пик при 537 нм, 457 нм, что соответствует длине волны поглощения каротиноидов.

Полученные данные необходимы для дальнейшего изучения путей биосинтеза каротиноидов, а также для их выделения, с целью получения органических пигментов.

*Исследования выполнены при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания в области научной деятельности проект № FEWG-2021-0013.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ КОЛИЧЕСТВА ВЫРАБАТЫВАЕМОГО ГЕПАТОЦИТАМИ АЛЬБУМИНА ОТ МАТЕРИАЛА ПОДЛОЖКИ

***С. С. Бакуменко*, *А. А. Аитова, Б. А. Римская, С. А. Щербина, В. А. Цвелая***
Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Московской обл., Институтский пер., 9; *bakumenko.ss@phystech.edu*

Одной из наиболее актуальных задач современной медицины является развитие персонализированных методов лечения болезней печени. Актуальность данной проблемы объясняется острым недостатком донорских органов и сниженной продолжительностью жизни реципиентов после ортотопической трансплантации печени. На сегодняшний день среди альтернативных путей компенсаторной терапии печени стоит выделить следующие биоинженерные подходы: пересадка части органа и клеточных структур, использование аппаратов искусственного диализа и 3D-биопринтинг. В рамках представленной работы мы разрабатываем принципиально новый метод компенсаторной терапии: портативное устройство со сменными биокартриджами. Преимущество использования данного устройства состоит в том, что сменный картридж с гепатоцитами не удерживает белковые молекулы, ответственные за тромбогенез, в отличие от полупроницаемой мембраны диализатора, а также в отсутствие иммунного отторжения, возникающего при пересадке органа или его части.

На первой стадии разработки был подобран и модифицирован протокол выделения гепатоцитов, основанный на принципе ферментативной перфузии печени, что позволило получить высокоочищенную клеточную культуру. Среднее количество гепатоцитов, выделенных из крысиной печени, составляет ~10 млн клеток из 1 печени крысы. Далее осуществлялся подбор оптимальной подложки с соответствующими адгезивными свойствами. В результате тестирования 8 материалов было установлено, что наиболее подходящей подложкой служит полидиметилсилоксан (ПДМС), покрытый желатином и поликапролактоновыми волокнами. В процессе длительного культивирования шестнадцати линий гепатоцитов, выделенных из лабораторных крыс, было установлено, что клетки нормально функционируют вплоть до 25 дня, образуют кластерную структуру. Наглядным индикатором нормального функционирования гепатоцитов при их длительном культивировании является экспрессия альбумина. Проводился спектрофотометрический анализ растворов, которые накапливали альбумин в течение различного времени, вплоть до 7 дня.

На следующей стадии исследования будут проведены эксперименты по использованию гепатоцитов, выделенных из печени человека, на разработанном прототипе устройства.

# ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ НА ОСНОВЕ ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ С БЕРЛИНСКОЙ ЛАЗУРЬЮ И МИРНК

***К. Д. Балышева*[1, 2], *М. Ю. Кордюкова*[1, 3], *М. А. Комкова*[3], *О. Ю. Антонова*[4], *В. В. Белоусов*[5], *Т. О. Абакумова*[1]**

[1]Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1/7; *kamiloniya@mail.ru*

[2]Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», 119049, Москва, Ленинский просп., 4/1

[3]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

[4]Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, Московской обл., ул. Институтская, 3

[5]Федеральный центр мозга и нейротехнологий, 117513, Москва, ул. Островитянова, 1/10

Для современной медицины рак по-прежнему остается одной из самых актуальных проблем. В связи с этим разработка противоопухолевых препаратов, как и поиск новых мишеней для терапии, являются важными задачами. В данной работе в качестве мишени рассматривается ганкирин – онкогенный белок, принимающий участие в росте, развитии и инвазии раковых клеток. Ингибирование экспрессии ганкирина позволит снизить пролиферацию и рост клеток, а также преодолеть лекарственную резистентность.

Однако известно, что активные формы кислорода (АФК) влияют на устойчивость клеток рака к терапии, препятствуя доставке лекарственных средств. В связи с этим целью данной работы была разработка системы транспорта лекарств с механизмом защиты терапевтического препарата от АФК для повышения эффективности терапии.

Для выполнения данной задачи были синтезированы системы доставки на основе липидных частиц, в которые поместили два препарата: малые интерферирующие РНК (миРНК) и каталитически активные наночастицы берлинской лазури (НЧБЛ) диаметром 35±4 нм, отличающиеся повышенным антиоксидантным воздействием. При этом миРНК исполняли функцию терапевтического средства к ганкирину, тогда как наночастицы берлинской лазури – функцию снижения уровня АФК, которая достигалась за счёт их высокой каталитической активности.

Эффективность полученных систем доставки проверяли в ходе экспериментов *in vitro* и *in vivo* на мышах. В результате этих экспериментов было показано, что наночастицы берлинской лазури действительно проявляют высокую каталитическую активность ($2.2 \cdot 10^{3с^{-1}}$), благодаря чему уровень АФК в воспалённых клетках печени мышей снижался вдвое, а концентрация доставленных миРНК к ганкирину была в два раза больше, чем в системах доставки без НЧБЛ.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-75-10151.*

# ВЛИЯНИЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ СУБМИКРОННЫХ РАЗМЕРОВ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ ЗАЩИТУ ГРИБА *ASPERGILLUS NIGER*

***Р. В. Барышков*, *Н. А. Аникина*, *В. Ф. Смирнов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*romanbariskov1000@mail.ru*

В литературе широко представлены исследования антимикробной активности фотокаталитически активных частиц оксидов тяжелых металлов. Однако биохимические механизмы их биоцидного эффекта на микроорганизмы, в частности микромицеты, не до конца изучены. Микроскопические грибы обладают мощной антиоксидантной защитой за счет лабильности и разнообразия их ферментных систем. Таким образом, поиск биоцидов, способных нарушать функционирование данной системы, что, как следствие, может приводить к гибели клетки, является актуальной задачей. Цель работы: исследование влияния субмикронных частиц оксида вольфрама и сложного оксида $CsTeMoO_6$ на активность экзокаталазы и экзопероксидазы *Aspergillus niger* в условиях действия света и в темноте, а также на накопление пероксида водорода в среде культивирования. Объекты исследования: *Aspergillus niger van Tieghen* ВКМF-1119; оксид вольфрама (III) ($WO_3$) со средним размером частиц 674 нм (соединение 1) и сложный оксид $CsTeMoO_6$ со средним диаметром частиц 670 нм (соединение 2). Были поставлены следующие варианты эксперимента: рост гриба на среде Чапека-Докса без введения соединений 1 или 2; рост гриба на среде с соединением 1 или 2 в темноте и на свету; соединения в культуральной среде без гриба. Концентрация соединений 1 и 2 составляла 2 мг/мл. Источник света – светодиодные прожекторы JAZZWAY PFL-C3 мощностью 50 Вт (плотность потока излучения 524 Вт/м$^2$). Часть образцов подвергалась воздействию света в течении 7 суток. После этого определялась общая активность ферментов в культуральной жидкости спектрофотометрически: каталазы – по убыли $H_2O_2$ ($\lambda$=240 нм), пероксидазы – по окислению п-фенилендиамина в присутствии $H_2O_2$ ($\lambda$=535 нм). Содержание пероксида водорода в культуральной среде определялась по FOX-методу. Показано, что штамм *Aspergillus niger* способен синтезировать и выделять во внешнюю среду пероксид водорода в значительном количестве. Введение в среду культивирования оксидов металлов приводило к резкому снижению концентрации регистрируемого пероксида водорода. Отмечено, что соединения 1 вызывало снижение активности каталазы и, напротив, повышало активность пероксидазы. Причем изменение активности обоих энзимов в большей степени наблюдалось при действии света. Введение в среду культивирования соединения 2 приводило к увеличению активности каталазы и пероксидазы в несколько раз по сравнению с контролем. Разнонаправленность действия соединений 1 и 2 может быть связана с различными механизмами их влияния на антиоксидантную защиту микромицета.

Для проведения исследований использовано оборудование центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

*Исследование поддержано Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-0024).*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИСКУССТВЕННО СФОРМИРОВАННОЙ БЕЛКОВОЙ КОРОНЫ НА ПОВЕРХНОСТИ НАФ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИХ ПОГЛОЩЕНИЯ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ

***Д. К. Баушева*, И. Д. Назаров, К. А. Тулякова, Н. Ю. Шилягина, Е. Л. Гурьев**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*bausheva16@mail.ru*

Тераностика является одним из актуальных и активно развивающихся направлений в биомедицине. Главной задачей тераностики является создание мультифункциональных агентов, обладающих терапевтическими и диагностическим свойствами одновременно. Антистоксовые нанофосфоры (НАФ) обладают специфическими фотолюминесцентыми свойствами, такими как: устойчивость к фото- и химической деградации, возбуждение длинами волн, попадающими в «окно прозрачности» биоткани, и продолжительная фотолюминесценция со сдвигом в коротковолновую область, что позволяет использовать их как платформу для создания тераностических агентов.

В ряде исследований было показано преимущество перитонеальных инъекций перед внутривенными по эффективности адресной доставки препаратов в перитонеальные опухолевые очаги. В связи с этим мы предполагаем, что исследование фагоцитоза нанокомплексов перитонеальными макрофагами позволит изучить опосредованный транспорт наночастиц в перитонеальные опухоли.

Модификация поверхности НАФ при помощи тетрафторбората нитрозония ($NOBF_4$) методом обмена лигандов позволила достичь гидрофильности и биосовместимости частиц. Для искусственного формирования белковой короны на поверхности НАФ-$NOBF_4$ использовали бычий сывороточный альбумин (БСА) и термически денатурированный альбумин (дБСА). Альбумин биосовместим, нетоксичен, неиммуногеннен, что позволяет использовать его в качестве покрытия НАФ. Суспензии НАФ-$NOBF_4$ в растворах БСА и дБСА лиофилизировали для получения нанокомплексов НАФ-$NOBF_4$-БСА и НАФ-$NOBF_4$-дБСА. Гидродинамический диаметр нанокомплексов НАФ-БСА и НАФ-дБСА составил ~105 нм и ~139 нм соответственно.

Полученные перитонеальные макрофаги из транссудата мышей линии BalB/C, высевали в лунки 96-луночного конфокального планшета. После прикрепления перитонеальных макрофагов ко дну лунки добавляли суспензию нанокомплексов НАФ-$NOBF_4$-БСА и НАФ-$NOBF_4$-дБСА, инкубировали в течении 2 ч. Лунки отмывали и взаимное расположение клеток и частиц исследовали методом конфокальной лазерной флуоресцентной микроскопии. В результате было выявлено большее накопление НАФ-БСА в перитонеальных макрофагах по сравнению с НАФ-дБСА.

Исследование влияния искусственно сформированной белковой короны на поверхности НАФ на эффективность доставки нанокомплексов в перитонеальные опухолевые очаги с помощью перитонеальных макрофагов проводится в настоящее время.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» ННГУ (Проект № Н-417-99_2022-2023).*

# МОРФО-МЕХАНИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ EA.HY926 В ПРОЦЕССЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ МИГРАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ *IN VITRO*

***Н. А. Безруков*[1], *С. З. Бобык*[1], *С. Н. Плескова*[1, 2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*nick_bezrukov@mail.ru*

[2]Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, 603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24

Преобразования эндотелиального монослоя в процессе миграции клеток из кровяного русла – естественный процесс, обеспечивающий нормальное протекание диапедеза. Перестройка цитоскелета, изменение проницаемости мембраны, возможность регенерации делают эндотелиальный барьер проницаемым для компетентных клеток крови, но стабильным во времени. Целью работы было динамическое исследование морфо-механических изменений эндотелиоцитов в *in vitro* модели трансэндотелиальной миграции нейтрофилов высокоразрешающим методом сканирующей ион-проводящей микроскопии (СИПМ).

Для моделирования системы миграции эндотелиальные клетки линии EA.hy926 выращивались монослоем на обработанной адгезионным покрытием поликарбонатной мембране (диаметр пор 3 мкм) в течение 72 часов в среде DMEM/F12 (37 °C, 5% $CO_2$). Выращенный монослой отмывался забуференным 0,01% HEPES раствором Хенкса (pH 7,2-7,4) и помещался в изготовленную методом 3D-печати двухсекционную аналитическую камеру, в нижней секции которой находился хемоаттрактант (бактериальная суспензия S. aureus 2879 M в конечной концентрации $2{,}5\times10^7$ кл/мл), а в верхнюю вносились нейтрофильные гранулоциты, выделенные на двойном градиенте фиколла-тразографа. Динамические изменения в системе регистрировались с помощью сканирующего ион-проводящего микроскопа. Сканирование проводилось в «прыжковом» режиме с использованием боросиликатных нанокапилляров с диаметром кончика до 50 нм. Ригидность клеток определяли по напряжению, оказываемому нанокапилляром на клетку, в диапазоне уменьшения ионного тока от 0,5% до 2%, регистрируемого усилителем MultiClamp 700 B (Molecular Devices, Великобритания) при значении потенциала 200 мВ. Обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения ICAPPIC (ICAPPIC Ltd., Великобритания).

По результатам сканирования были визуализированы динамические изменения морфологии эндотелиоцитов как непосредственно в процессе миграции нейтрофилов, так и при длительном наблюдении *in vitro* и было отмечено образование новых связей между эндотелиоцитами и изменение локализации клеток на поверхности мембраны. Были составлены карты ригидности поверхности эндотелиальных клеток с визуализацией отдельных органелл, в частности ядрышек. В режиме реального времени была визуализирована гибель эндотелиоцита.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-74-00004.*

# ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА СОХРАНЕНИЕ КАЧЕСТВА СПЕРМЫ БЫКОВ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

***А. А. Белов*[1, 2], *М. Н. Иващенко*[1, 2], *А. В. Дерюгина*[1], *А. И. Ерзутов*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

[2]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *kafedra2577@mail.ru*

Криоконсервация биологического материала служит важнейшим звеном интеграции репродуктивных технологий в практику сельского хозяйства. Однако использование криоконсервированной спермы ограничено, так как процесс замораживания-оттаивания неизбежно приводит к изменениям в ультраструктуре сперматозоидов и отражается на их биологической полноценности. Повышение эффективности осеменения коров замороженной спермой является важным технологическим вопросом в скотоводстве.

Молекулярный водород относится к группе антиоксидантов, который на клеточном уровне тормозит перекисное окисление липидов, повышает активность антиоксидантной системы. Это позволяет предположить его благоприятное влияние на показатели жизнеспособности сперматозоидов быков при криоконсервации.

Целью работы - определение влияния молекулярного водорода на фертильные параметры эякулята крупного рогатого скота при криоконсервации.

В эксперименте использовали семя от 15 голштинских быков-производителей с подвижностью сперматозоидов более 7 баллов. Семя от одного быка разделяли на контрольную и опытную группы и разбавляли растворителем «BioXcell», в контрольной группе растворитель разбавляли дистиллированной водой, в опытной - добавляли дистиллированную воду, насыщенную молекулярным водородом. Концентрация водорода в растворе находилась в пределах 1,2-1,5 мг/л. Далее готовое семя замораживали в открытых гранулах в жидком азоте при температуре -196˚С. После окончания семидневного карантина семя, замороженное в открытых гранулах, было разморожено по стандартной технологии. Для дальнейшей оценки качественных характеристик (подвижность, скорость движения) сперматозоидов использовали спермоанализатор SA-500 фирмы «Биола». Полученные данные оценивали по параметрическому t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования свидетельствуют, что добавление молекулярного водорода в среду для разбавления спермы достоверно повысило количество подвижных сперматозоидов по отношению к контролю на 21,47%, повысило количество быстроподвижных клеток на 16,49% и увеличило среднюю скорость движения сперматозоидов на 7,95%, что несомненно указывает на увеличение показателей фертильности опытных образцов быков-производителей. Таким образом, использование молекулярного водорода способствует повышению подвижности и живучести оттаянных сперматозоидов.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00205.*

# МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ 1-АЛКОКСИ-2-ЙОД-ЭТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА А

***Н. Д. Белых*[1], *Е. И. Пушкарева*[2], *Д. В. Белых*[2], *И. О. Велегжанинов*[3]**

[1]Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина, 167001, Сыктывкар, Октябрьский просп., 55; *uxx228000@gmail.com*

[2]Институт химии Коми научного центра УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48

[3]Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

Увеличение различия между концентрациями, при которых наблюдается собственный и фотоиндуцированный цитотоксический эффект потенциальных противоопухолевых фотосенсибилизаторов (ФС) может быть достигнут за счет усиления способности генерировать активные формы кислорода (АФК) при воздействии света (660 нм). Предварительные исследования (Белых и др. Макрогетероциклы 2022 15(2) 90-100 DOI: 10.6060/mhc224280b) йодсодержащих производных хлорофилла *а* свидетельствуют, что внедрение атома йода в молекулу хлоринового ФС увеличивает различие между концентрациями, при которых проявляется темновая и фотоиндуцированная токсичность. Наибольшими значениями IC50(темн)/IC50(фото) характеризуются соединения 3-(1-(5-Гидрокси-3'-оксапентокси)-2-йодэтил)пирофеофорбид а метиловый эфир (1); 3-(1-Метокси-2-йодэтил)хлорин е6 13-N-метиламид-15,17- диметиловый эфир (2); 3-(1-(-Гидроксиэтокси)-2-йодэтил)хлорин е6 13-N-метил- амид-15,17-диметиловый эфир (3).

В настоящей работе были определены IC50(темн), IC50(фото) для клеток линии HeLa. Показано, что IC50(темн)/IC50(фото) для йодсодержащих хлоринов в большинстве случаев больше, чем для хлоринов без атома йода. На примере соединений №1, 3 и 2, с наибольшим и умеренным значениями IC50(темн)/IC50(фото), продемонстрировано аналогичное воздействие на клетки линий A549 и HT-29. Для соединения №1 с наибольшим IC50(темн)/IC50(фото) (>4600) через 40 минут после облучения в клетках HeLa наблюдали повышенный уровень генерации АФК, а также индукцию каспазы 3. При определении типа гибели клеток регистрировали достоверное увеличение доли клеток, окрашенных одновременно PI и Annexin V, при отсутствии повышения доли клеток, окрашенных только PI или Annexin V. По данным люминесцентной микроскопии исследованные соединения локализуются преимущественно вне митохондрий и не поникают в ядро. Таким образом соединение 7 в концентрации 0,5 мкМ/л через 40 мин. после облучения (660 нм, 12 Дж/см$^2$, 20 мин.) индуцирует образование АФК, а тип гибели клеток характеризуется признаками и некроза и апоптоза. Анализ литературных данных о типе клеточной смерти (Mishchenko et al. Cell Death and Disease (2022) 13:455; https://doi.org/10.1038/s41419-022-04851-4) позволяет предположить индукцию пироптоза при действии йодсодержащих хлоринов.

Полученные данные позволяют считать эти соединения перспективными для дальнейшего исследования в качестве ФС, взывающих не только фотоиндуцированную гибель, но и увеличение иммуногенности опухолевых клеток.

*Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП "Молекулярная биология" Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.*

# ПЕЧЁНОЧНЫЕ МХИ, КАК ПРОДУЦЕНТЫ МОЛЕКУЛ С БИОМЕДИЦИНСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ

***А. Ю. Белышенко*, М. М. Моргунова, Е. В. Малыгина, М. Е. Дмитриева, Н. А. Имидоева, В. Н. Шелковникова, А. Ю. Рулева, В. А. Емшанова, Д. В. Аксёнов-Грибанов***
Иркутский государственный университет, 664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 1;
*al.belyshenko@gmail.com*

Целью данного исследования являлась качественная оценка содержания природных соединений с нейротехнологическим и биомедицинским потенциалом - биогенных аминов в образцах мхов, как собранных в природе, так и выращенных в лабораторных условиях.

Исследования проведены на образцах эксплантов мхов *Marchantia polymorpha*. Эксплант *M. polymorpha* был выращен методом жидкостной культивации в стерильной минеральной среде Тамия (10%) на орбитальном шейкере при интенсивности вращения 140 об/мин. Время культивации составило 1 месяц при температуре 22–24 °С с искусственным светодиодным освещением (900–1300 Лк.) и фотопериодом 12/12ч. Из эксплантов, собранных в природной среде, а также из образца мха, культивированного в жидкой питательной среде, проводили экстракцию вторичных метаболитов. Идентификацию нейроактивных аминов проводили методом ВЭЖХ-МС в режиме мониторинга множественных реакций на базе хромато-масс-спектрометрического комплекса Agilent Infiniti II с масс-спектрометрическим детектором QQQ 6470B. В образцах экстрактов мхов оценивали наличие таких биогенных аминов, как доффамин, гистамин, триптамин, тирамин.

Анализ хроматограмм показал, что дофамин, триптамин, тирамин присутствуют в образцах мхов *M. polymorpha*, собранных как в природе, так и выращенных в условиях жидкостного культивирования. Гистамин, напротив, был обнаружен только в образцах мха *M. polymorpha*, выращенных в условиях жидкостного культивирования, и достоверно идентифицирован по двум дочерним ионам.

Лекарственные растения широко используются в качестве альтернативных терапевтических средств для профилактики или вспомогательной терапии различных заболеваний. Представители моховидных растений могут быть перспективными источниками новых биологически активных соединений, о чем свидетельствует низкая степень изученности состава синтезируемых природных соединений. Известно, что немногочисленные из описанных вторичных метаболитов моховидных проявляют различную биологическую активность, в т.ч. противомикробную, противогрибковую, противоопухолевую, антиоксидантную, противовоспалительную и др. Однако, ввиду способности данных растений аккумулировать в себе токсиканты и ионы тяжелых металлов, дикорастущие моховидные растения практически не применяются в терапевтических и профилактических целях. В ходе настоящего исследования впервые показана способность моховидных растений к биосинтезу биогенных аминов. Вместе с тем, показано, что биогенные амины могут быть синтезированы растениями в лабораторных условиях, что дает возможность для безопасного биосинтеза, накопления биогенных аминов и формирования биотехнологического фармацевтического производства с данными объектом исследования.

*Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ (проект 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал).*

# ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ДОКСИЦИКЛИНОМ МОНОГИДРАТОМ, В УСЛОВИЯХ НОРМЫ И ЛЕЙКОЦИТОЗА

***М. В. Бельских*[1], *Е. С. Баева*[2], *В. Г. Артюхов*[1]**

[1]Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская, пл., 1; *marina.belskikh2428@gmail.com*

[2]Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10

Взаимодействие клеток с различными лекарственными препаратами является актуальной проблемой современной биофизики. Доксициклин – один из представителей тетрациклинового ряда антибиотиков, обладающих широким спектром действия. Благодаря своей высокой липофильности доксициклин способен проникать в клетки и взаимодействовать с внутриклеточными компартментами, вызывая в них структурно-функциональные изменения. В последние годы активно исследуются неантибактериальные эффекты данного препарата. Известно, что доксициклин обладает противовоспалительным и иммуномодулирующим действием. Поэтому целью наших экспериментов стало изучение основного белка эритроцитов, гемоглобина, в условиях воспалительного процесса у человека.

Мы проводили инкубацию суспензии эритроцитов, полученных из периферической крови человека методом центрифугирования, с доксициклином моногидратом в концентрации $8{,}65*10^{-5}$. Затем из модифицированных клеток выделяли гемоглобин и проводили регистрацию электронных спектров поглощения растворов нативного и модифицированного гемопротеида в диапазоне длин волн от 200 до 700 нм через 1,24 и 48 часов с момента инкубации. Уровень лейкоцитов и нейтрофилов в крови: лейкоциты – $(16{,}78\pm3{,}6)\cdot10^9$/л, абсолютный показатель нейтрофилов – $(13{,}01\pm3{,}8)\cdot10^9$/л.

При анализе электронных спектров поглощения гемоглобина было выявлено статистически значимое изменение интенсивности полосы поглощения при 274 нм в образцах, модифицированных доксициклином, по сравнению с нативными растворами гемопротеида после 1 часа (увеличение на 11%), 1 и 2 суток (снижение на 11%). Полученные данные свидетельствуют об изменении конформации глобулярной части гемопротеида, возникающем при взаимодействии доксициклина с сульфгидрильными группами метионина и цистеина и имидазольными группами гистидина (Баева, 2013).

Отмечено более выраженное образование метгемоглобина в образцах крови, полученной от лиц с лейкоцитозом, по сравнению с гемоглобином, выделенным из крови здоровых доноров. На это указывает сглаживание всех максимумов поглощения и появление полосы при 628–630 нм через 24 и 48 ч после начала инкубации. По мнению некоторых авторов, увеличение концентрации активных форм кислорода, связанное с нейтрофилезом, и изменение окислительно-восстановительного гомеостаза организма приводят к нарушению соотношения окси- и метформ гемоглобина и, как следствие, к накоплению молекул гемопротеида, неспособных переносить кислород (Laforge et al., 2020; Коваленко и др., 2013).

# РОЛЬ ФЕРМЕТОВ СОД И ПЕРОКСИДАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ РАЗНЫХ СОРТОВ СОИ ПРИ ДЕФИЦИТЕ КИСЛОРОДА

***О. С. Бердникова, П. И. Иванова, А. А. Севостьянова, А. Н. Ершова***
Воронежский государственный педагогический университет, 394024, Воронеж, ул. Ленина, 86; *profershova@mail.ru*

Сою (*Glycine max*) относят к перспективной бобовой культуре, посевы которой постоянно увеличиваются. В естественных условиях на растения, включая и сельскохозяйственные культуры, постоянно действуют неблагоприятные факторы, такие как дефицит кислорода, связанный с переувлажнением или затоплением почв. Затопление сои даже на непродолжительное время в течение вегетации, оказывало отрицательное влияние на структуру урожая. При гипоксии в клетках растений усиливаются процессы свободнорадикального окисления (СРО). Для поддержания оптимальных концентраций АФК в клетках работает система антирадакальной защиты. Продолжили исследование регуляции процессов СРО в клетках разных сортов сои при гипоксии на уровне антиоксидантных ферментов.

Объектом изучения являлись проростки сои сортов «Белгородская 48», «Вышиванка» и «Писанка», выращенные методом гидропоники на свету. Надземную часть проростков помещали в затемненные вакуум-эксикаторы, через которые пропускали разные газовые среды в течение 3–24 часа. Активность фермента СОД определяли спектрофотометрически по скорости окисления NADH в присутствии нитросинего тетразолия и ФМС, общей пероксидазы с использованием о-дианизидина и выражали в единицах ФЕ/мг белка мин$^{-1}$. Содержание белка определяли по Лоури. Опыты проводились не менее 3-5 раз в двух биологических повторностях, результаты рассчитывали методом математической статистики.

Активность фермента СОД, способного обезвреживать супероксид-анион, при действии гипоксии в клетках сои сорта «Белгородская 48» постепенно возрастала и к концу опыта увеличилась в 3,5 раза, а при действии $CO_2$-среды почти в четыре раза. В клетках сои сорта «Вышиванка» активность СОД возрастала только к концу опыта на 30–70%, а в клетках сорта «Писанка» увеличивалась до 230% при гипоксии и до 280% в среде $CO_2$. Активность пероксидазы, участвующей в детоксикации пероксида водорода, в клетках сои сорта «Белгородская 48» после снижения возрастала только при гипоксии до 200%. В проростках сои сорта «Вышиванка» активность пероксидазы после повышения начинала, наоборот, снижаться как при гипоксии, так и действии $CO_2$-среды до 50-75% от аэрируемых растений, а сорта сои «Писанка» возрастала в 1,5 раза при действии $CO_2$-среды, но не гипоксии.

Выявление ответных реакций культурных растений на уровне ферментов служит доказательством не только экологических воздействий, но и селекции, которые касаются как морфологических, так и метаболических особенностей разных сортов растений. Ранее это не учитывалось при изучении адаптации растений к стрессам. Полученные данные имеют и практическое значение, так как их можно использовать при подборе сортов к определенным условиям выращивании и в селекционной работе, наряду с другими биохимическими показателями.

# ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА БЕЛКА SAM68 И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО РОЛИ В РЕГУЛЯЦИИ РЕПАРАЦИИ ДНК

***Е. А. Бережнев*[1, 2], *К. Н. Науменко, О. И. Лаврик***

[1]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*berezhneve@list.ru*

[2]Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

ДНК организма человека постоянно находится под воздействием повреждающих экзогенных и эндогенных агентов. Сохранение целостности генетической информации обеспечивается системами репарации ДНК. Ключевым регулятором процессов репарации в настоящее время рассматривается поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP1). Активируясь на повреждениях ДНК, PARP1 катализирует синтез полимера АДФ-рибозы, который может присоединяться как к самой полимеразе, так и к другим белкам-акцепторам, что способствует регуляции процесса репарации. Регуляторная функция, выполняемая PAR, в ответе клетки на повреждение ДНК, очень многогранна, поэтому идентификация и изучение белков, влияющих на активность PARP1 и синтез PAR в ответ на генотоксический стресс является важной задачей. С использованием методов метод масс-спектрометрического анализа для идентификации белков, ассоциированных с поли(АДФ-рибозой), было обнаружено, что многие РНК-связывающие белки могут быть поли(АДФ-рибозил)ированы или взаимодействовать с поли(АДФ-рибозой) в условиях генотоксического стресса. Одним из потенциальных кандидатов на роль белка, локализующегося в месте повреждения ДНК PAR-зависимым путем или белка-регулятора активности PARP1 в условиях генотоксического стресса является Sam68. Установлено, что Sam68 является важным белком для регуляции реакции поли(АДФ-рибозил)ирования, увеличивая суммарный выход синтезируемой поли(АДФ-рибозы). В этой работе в качестве модельной системы были использованы культуры клеток и детальный механизм влияния Sam68 установлен не был.

В лаборатории биоорганической химии ферментов ведется активный поиск новых мишеней поли(АДФ-рибозил)ирования, катализируемого белками семейства PARP, среди ферментов, участвующих в различных путях репарации ДНК и ее репликации. Кроме того проводится оценка влияния поли(АДФ-рибозил)ирования на функции модифицированных белков. Предполагается, что механизм влияния Sam68 на активность PARP1 может реализовываться и в случае других РНК-связывающих белков.

Для выполнения работы кодирующая последовательность гена белка Sam68 клонирована в экспрессионные векторы для наработки рекомбинантного белка в прокариотической системе экспрессии. С использованием полученных векторов был проведен подбор условий для наработки Sam68 в клетках *E. coli Rosetta(DE3)pLysS*. Была проведена очистка целевого белка методом колоночной хроматографии с последующей верификацией масс-спектрометрией. С использованием полученного белка планируется исследовать влияние Sam68 на каталитическую активность фермента PARP1, ключевого регулятора репарации одноцепочечных разрывов ДНК.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-74-10059).*

# СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ (*BETULA PENDULA* ROTH.) В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ КРУПНЕЙШЕГО ЧЕЛЯБИНСКОГО МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ

***С. В. Беренцева***

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, 620000, Екатеринбург, ул. Ленина, 21; *berentseva.sus@gmail.com*

Для исследования изменения содержания фотосинтетических пигментов в условиях техногенной нагрузки были выбраны деревья берёзы повислой, произрастающие на участках леса и зелёных насаждений, расположенных вокруг территории промышленного кластера Челябинского металлургического комбината (ЧМК) полного цикла и других сопутствующих предприятий производства, стали и прокатных изделий. В качестве фоновой территории использовался Каштакский бор, являющийся памятником природы областного значения, опоясывающий промзону своей южной и юго-восточной частью, на расстоянии 0,5–2,5 км. Было выбрано шесть точек вокруг промышленной территории с учётом преобладающих ветров в вегетационный период, две из них фоновые (при этом в процессе исследования было обнаружено, что вторая фоновая точка подверглась большему воздействию, чем импактные точки). С каждой точки отбиралось по три дерева примерно одинакового размера и вегетативного возраста, с которых отбирали 100 листьев с южной экспозиции кроны.

В собранных листьях определяли содержание пигментов фотосинтеза (хлорофилла a и b, каротиноидов, отношение содержания хлорофилла a к b, отношение содержания суммы хлорофиллов a и b к каротиноидам) спектрофотометрическим методом.

В результате исследования обнаружено, что в импактных точках содержание хлорофилла *a* колебалось от 3,02 мг/г сухого веса до 3,85 мг/г сухого веса. В среднем в фоновых точках содержание хлорофилла *a* было на 28,5% выше, для первой фоновой точки это значение достигло 49% в сравнении с импактными. Содержание хлорофилла b в импактных точках колебалось от 1,7 мг/г сухого веса до 2,5 мг/г сухого веса. В среднем содержание хлорофилла b в фоновых точках было выше на 20,3%, в первой фоновой на 40%.

Содержание каротиноидов в импактных точках колебалось от 0,52 мг/г сухого веса до 0,62 мг/г сухого веса. В среднем содержание каротиноидов на фоновой территории было на 24,6% выше, и на 28% если рассматривать только первую фоновую точку. Отношение содержания хлорофилла a к b максимальны на фоновой территории – 1,77 среднее по двум точкам против среднего 1,66 импактных значений. Отношение содержания суммы хлорофиллов a и b к каротиноидам в среднем составило 9,6 на импактной территории и 10,9 чистой фоновой точки.

Техногенная нагрузка привела к снижению содержания пигментов фотосинтеза в листьях берёзы повислой на 25–49%, что свидетельствует о значительном влиянии на окружающую среду промышленного кластера и угнетению зеленых насаждений.

# ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ ПОЛИМЕРОВ ПОЛИ-L-АРГИНИНА И СУЛЬФАТА ДЕКСТРАНА НА ЗАГРУЗКУ ДОКСОРУБИЦИНА И ТИМОХИНОНА В ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ

***Д. Д. Бирюкова*[1], *А. В. Михеев*[2], *Т. В. Букреева*[2, 3], *Д. Б. Трушина*[2, 4]**

[1]Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Миусская пл., 9; *ms.dzzzb@mail.ru*

[2]ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59

[3]НИЦ «Курчатовский институт», 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

[4]Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8

Инкапсулирование биологически активных веществ (БАВ) является актуальной задачей биотехнологии, химии и медицины и позволяет защищать препараты от нежелательных внешних воздействий, адресно доставлять к очагу поражения и осуществлять их пролонгированное высвобождение. Среди многочисленных систем инкапсуляции благодаря своей универсальности выделяются полиэлектролитные микрокапсулы, формирующиеся на основе коллоидных микрочастиц. Благодаря большой пористости, биосовместимости и возможности растворения в мягких условиях, карбонат кальция является достаточно удобным материалом. Загрузку полиэлектролитных микрокапсул можно осуществить двумя различными способами. В первом случае действующее вещество сорбируется в поры карбоната кальция, и на полученных частицах формируется оболочка. Во втором случае БАВ за счет диффузии проникает через полупроницаемую оболочку предварительно синтезированных капсул и остается внутри. Проницаемость и загрузочные свойства капсул могут варьироваться в зависимости от состава и конформации полимеров в многослойной оболочке. В связи с этим особый интерес вызывает вопрос влияния молекулярной массы составляющих оболочку полимеров на загрузку БАВ. Целью данной работы было получение многослойных капсул, оболочки которых представляют комплекс поликатиона поли-L-аргинина (ПАрг) с полианионом сульфатом декстрана (ДС) и анализ влияния молекулярных масс полиэлектролитов на загрузку БАВ.

В рамках данной работы методом массовой кристаллизации в водных растворах синтезированы микронные частицы карбоната кальция в модификации ватерита. На их основе сформированы микрокапсулы со структурой оболочки $(ПАрг/ДС)_3$. Использовали ПАрг с молекулярной массой 5–15, 15–70, >70 кДа и ДС 9–20, 40, 500 кДа. Методом электрофоретического рассеяния света по изменению дзета-потенцилаа после нанесения каждого слоя продемонстрировано успешное формирование оболочек вида $(ПАрг/ДС)_3$. С помощью сканирующей электронной микроскопии исследована морфология полученных образцов. Показано, что при всех комбинациях молекулярных масс полиэлектролитов происходит образование устойчивого комплекса. Методом физической сорбции полученные образцы капсул загружены доксорубицином и тимохиноном и изучена зависимость эффективности их капсулирования от молекулярных масс полиэлектролитов.

# ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕКИ ТЕША ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ФИТОПЛАНКТОНА (ПО ДАННЫМ 2022 ГОДА ИССЛЕДОВАНИЙ)

***Ю. В. Блинова*, *Е. Л. Воденеева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*blinovauvik@gmail.com*

Большинство речных экосистем Нижегородской области испытывает заметное антропогенное воздействие. В рамках нацпроекта «Экология» и регионального проекта «Сохранение уникальных водных объектов» на некоторых водотоках области начаты работы по очищению русла. Так, в сентябре 2021 г. было очищено более 10 километров р. Теша. Река Теша – правый приток р. Оки, берёт своё начало в Приволжской возвышенности, в низовьях протекает по Окско-Тешской низине. Протяженность реки 311 км, площадь бассейна 7800 м$^2$, ширина в верховье около 10 м, в нижнем течении – до 50 м. Для вод р. Теша характерен высокий уровень минерализации.

Фитопланктон – важная часть биоты водных экосистем, является основным продуцентом органического вещества и может служить индикатором качества воды. В связи с этим целью работы стала оценка современного экологического состояния р. Теша по альгологическим показателям.

Материалом для работы послужили пробы фитопланктона, собранные в летний сезон 2022 года с 20 станций, установленных в разных участках течения. Также проводился гидрохимический анализ воды. Отбор и обработка материала проводились общепринятыми в альгологии методами.

Воды р. Теша характеризовались сульфатным классом. На всех участках течения отмечалось повышенное содержание фосфатов (0,98 мг/л), сульфатов (385,7 мг/л) и нитритов (1,94 мг/л); на отдельных станциях наблюдалось превышение ионов магния (58,2 мг/л) и железа (0,12 мг/л). По показателям pH воды р. Тёша характеризовалась слабощелочной реакцией.

В летнюю межень 2022 г. в составе фитопланктона р. Теша были обнаружены 108 видов водорослей из 7 отделов с преобладанием диатомовых (44,4% общего видового состава) и зеленых (38,9%). Остальные группы составляли от 5,6 до 0,9%. Степень развития фитопланктона соответствовала олиготрофному, либо слабомезотрофному уровню. Численность варьировала от 0,02 до 2,13 млн кл./л, биомасса от 0,05 до 2,25 г/м$^3$. В верховье реки в численном отношении преобладали цианобактерии (50,3%), ниже по руслу – зеленые (до 57–92%). По биомассе в верхнем и среднем течении выделялись диатомеи (до 87%) – *Melosira varians, Cocconeis placentula, C. pediculus* и другие. В нижнем течении наряду с ними доминировали динофлагелляты (*Peridinium* sp., *Peridiniopsis* sp.) (до 41,3%).

Степень органического загрязнения исследованных водоемов по величинам индекса сапробности (по численности от 1,69 до 2,68, по биомассе от 1,57 до 2,08) оценивалась как β-мезосапробная. Воды реки Теша характеризовались III классом качества – умеренно загрязненные.

# ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* ЧЕРНОБЫЛЬСКОГО ЭКОТИПА ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СЕМЕНА

***Я. А. Блинова*[1], *А. А. Празян*[1], *П. Ю. Волкова*[2], *Е. А. Казакова*[1]**

[1]Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Обнинск, Киевское шоссе, 1/1; *yana.manuhina@yandex.ru*

[2]Независимый исследователь, Бельгия, Гел

В рамках данной работы была проведена оценка устойчивости потомков *Arabidopsis thaliana* чернобыльского экотипа по изменению активности антиоксидантных ферментов – аскорбатпероксидазы (APX), каталазы (CAT) и гваяколовой пероксидазы (GPX) в листьях, после индукции абиотического стресса на семена.

Объектом исследования были линии семян модельного растения *A. thaliana* чернобыльского экотипа. Для получения линий семена собирали на территории зоны отчуждения ЧАЭС в ПГРЭЗ (Республика Беларусь), индивидуально с каждого растения. Экспериментальные участки характеризовались разным уровнем радиоактивного загрязнения. Мощность амбиентной дозы для загрязненного участка – 3,2 мкЗв/ч, для участка с фоновым уровнем загрязнения – 0,3 мкЗв/ч. В лабораторных условиях из собранных семян было получено следующее поколение, которое использовалось в эксперименте. Эти семена были подвергнуты действию стрессоров – гипертермии, облучению и метилвиологену. Контролем служили семена без воздействия стресса.

Для оценки ферментативной активности 20-дневные проростки, выращенные на среде ½ МС в чашках Петри, пересаживали на грунт и доращивали в течение 10 дней. На 31 сутки всю надземную часть растения помещали в криопробирки и немедленно замораживали в жидком азоте.

Активность ферментов оценивали при помощи спектрофотометра NanoDrop OneC (Thermo Scientific, США). Показания спектрофотометра переводили в международные единицы (МЕ) (МЕ в мл реакционной смеси). Длина оптического пути – 10 мм.

Данные активности антиоксидантных ферментов представляли в формате «Медиана (Q1; Q3)». Выборки проверяли на наличие выбросов. Для оценки различий использовали U-критерий Манна-Уитни непараметрической статистики в STATISTICA 8.0.

Активность APX оценивали путем определения скорости разложения пероксида водорода ферментом исследуемого образца с образованием воды и дегидроаскорбата. Активность CAT оценивали по динамике разложения пероксида ферментом после его внесения в РС. Активность GPX оценивали по ее способности в присутствии пероксида водорода катализировать превращение гваякола в тетрагваякол.

Таким образом, активность APX в листьях растений *A. thaliana* чернобыльского экотипа снижалась после воздействия γ-излучения ($p = 0,043$) и метилвиологена ($p = 0,043$) на потомков семян с радиоактивно загрязненного участка. Активность GPX в листьях после обработки семян высокой температурой оказалась ниже, чем в контроле для фонового ($p = 0,049$) и загрязненного участка ($p = 0,021$) а также снижалась при росте растений на среде с метилвиологеном для загрязненного участка ($p = 0,021$). Статистически значимого снижения активности CAT не отмечено. Таким образом, растения показали устойчивость к действию излучения и чувствительность к действию гипертермии и метилвиологена.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 20-74-10004.*

# ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ЭНТЕРОКОККОВ И ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ НА АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА И РЕЦЕПТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ

***Д. И. Боброва*[1], *Н. А. Александрова*[2], *Г. А. Кравченко*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*bobrova2116@gmail.com*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Первым этапом инфекционного процесса является адгезия. Это способность микроорганизмов адсорбироваться на твердых поверхностях и чувствительных клетках с последующей колонизацией. Буккальные эпителиоциты являются первым защитным барьером организма человека, обеспечивая активацию врожденного иммунитета. На функциональное состояние эпителиоцитов влияют различные факторы, например, метаболиты бактерий. Целью работы явилось изучение влияния метаболитов энтерококков и энтеробактерий на адгезивные взаимодействия буккальных эпителиоцитов с *Candida albicans* 601.

Материалами послужили музейные культуры кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ: *Candida albicans* 601, *Escherichia coli* (штаммы 1950, 1952, М-17, Nissle 1917), *Enterococcus faecium* (штаммы L3, 2482, 651).

Эпителиоциты получали натощак от здоровых некурящих доноров 18-25 лет. Готовили взвесь в концентрации 108 кл/мл с помощью денситометра DEN-1B (Biosan, Латвия). *Candida* spp. получали на декстрозном агаре Сабуро (HiMedia, India). Культуру отмывали ЗФР, получали клеточную суспензию кандид в концентрации 104 кл/мл. Для получения метаболитов штаммов *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* культивировали в бульоне TSB (Dickenson and Company, USA) 48 часов при 37 °С. Супернатанты центрифугировали (1000g, 15 мин), пропускали через бактериальные фильтры (Sterile syringe filter, Germany).

Эпителиальные клетки и метаболиты смешивали в равных объемах, инкубировали 30 мин при 37°С. В контрольных пробах использовали ЗФР. Эпителиоциты отмывали ЗФР от неприкрепившихся кандид (40g, 5 мин), из осадка клеток готовили мазок, зафиксированный этанолом (10 мин), окрашивали водным раствором азура А. Подсчитывали уровень адгезии, как среднее число адгезированных кандид при подсчете на 100 клетках. Для оценки экспрессии использовали проточную цитофлюориметрию. К взвеси клеток добавляли: смесь антител для идентификации, TLR-2 (CD282), TLR-4 (CD284) (BD Pharmingen, USA). Для контроля использовали TSB и ЗФР. Материал помещали в проточный цитофлюориметр BD FACS Canto II (6-color, USA).

Установлено, что продукты метаболизма энтерококков не существенно изменяют количество жизнеспособных буккальных эпителиоцитов (в 1,01–1,15 раз), не влияют на их адгезивные способности. Метаболиты влияют на уровень экспрессии TRL-2, TLR-4, степень и вектор изменений носят штамм-специфичный характер.

Продукты метаболизма энтеробактерий изменяют количество жизнеспособных клеток в 1,12–1,49 раз, увеличивая способность эпителиоцитов к адгезии (в 1,5–2 раза). Также отмечается значительное увеличение экспрессии TLR-4 под воздействием некоторых штаммов (в 9 раз), уровень экспрессии TLR-2 увеличивался несущественно.

# ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НОЦИЦЕПТИВНОЙ И МОТОРНОЙ СИСТЕМ ПРИ ОПЕРАТИВНОЙ КОРРЕКЦИИ ДЕФОРМАЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА

***М. А. Богатырев*, М. С. Сайфутдинов, Д. М. Савин, П. В. Очирова, О. М. Сергеенко, Ю. С. Арестова**

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России, Курган, ул. М. Ульяновой, 6;
*270419920000dok@gmail.com*

Хорошо известны антагонистические отношения между моторной и ноцицептивной системами. Нарушения моторной функции у пациентов с деформацией позвоночника повышают риск возникновения интраоперационных повреждений. Данные обстоятельства осложняют реабилитацию. Цель работы – найти способ тестирования уровня баланса состояний моторной и ноцицептивной систем.

Методом электромиографии (ЭМГ) получали электрическую активность *musculus tibialis anterior* при ее максимальном произвольном напряжении у 87 пациентов (30 мужского, 57 женского пола), в возрасте 6–43 лет (15,6±0,6 лет) с деформациями позвоночника (20–105° по сколиотическому и 15–134° – по кифотическому компоненту) различной этиологии. Всю совокупность ЭМГ-паттернов разделили на две подгруппы: насыщенные и ненасыщенные. Методом эстезиометрии регистрировали пороги ощущения боли от горячего дерматомов L5 и Th1 (контроль). Строились скатерограммы, ось абсцисс – шкала температур, ось ординат - амплитуда ЭМГ. С помощью средств аппроксимации Excel-2010 выбиралось уравнение с максимальным коэффициентом детерминации (R2). Пациентов обследовали до и через 2 недели после операции.

Максимальный R2 имело аппроксимационное уравнение вида AEMG=aT3+bT2+cT+d; где AEMG – амплитуда ЭМГ при максимальном произвольном напряжении, T – порог ощущения тепла, a, b, c, d – эмпирические коэффициенты. На основании величин R2 сравнение качества аппроксимации для всего набора ЭМГ-паттернов, а также для насыщенной и ненасыщенной ЭМГ по отдельности. При этом R2 превышал 0,5 только для ненасыщенных ЭМГ-паттернов, в остальных случаях менее 0,2.

Выявление наличия сопряженности между уровнем произвольной активности мышц и уровнем настройки ноцицептивной системы, которая отображается в значениях порогов боли от горячего. Характер сопряжения выражается в обратной зависимости между болевым порогом и амплитудой ЭМГ. Максимальная выраженность этой взаимосопряженности для ненасыщенных паттернов ЭМГ указывает на то, что условием ее проявления является специфический режим стволовых центров, регулирующих позно-тоническую активность мышц.

В послеоперационном периоде максимальные значения R2 сохраняются для того же вида уравнений. Однако все их значения, независимо от вида ЭМГ-паттернов снижаются до уровня случайности. Вероятнее из-за последствий всплеска ноцицептивной активности и полимодальной анестезии нарушается система связей между моторной и вегетативной системами.

В связи с вышесказанным, мы полагаем, что данные обстоятельства позволят повысить эффективность реабилитационных мероприятий.

# ОТРАБОТКА ПРОТОКОЛОВ ПОЛУЧЕНИЯ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ ОРГАННЫХ МАТРИКСОВ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРООКРУЖЕНИЯ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА

***А. Ю. Богомолова*[1, 2], *П. С. Ермакова*[1], *А. В. Кашина*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *baleksandra@icloud.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Трансплантация островков Лангерганса (ОЛ) поджелудочной железы является современным методом клеточной терапии, позволяющим избежать осложнений при лечении пациентов с сахарным диабетом и добиться нормогликемии. Одной из самых главных проблем является гибель ОЛ до процедуры трансплантации. Предполагается, что это связано с потерей микроокружения ОЛ во время изоляции. Актуальной темой остается поиск идеального матрикса для формирования микроокружения ОЛ во время изоляции. Перспективным подходом в тканевой инженерии и регенеративной медицине является использование децеллюляризированных тканей в качестве биоинженерных конструкций. Получение бесклеточных органных матриксов, или децеллюляризация (ДЦЛ), – процесс, направленный на удаление клеток из ткани или целого органа с сохранением структуры и микроциркуляторного русла. Биоэквиваленты, полученные на основе ДЦЛ матриксов и ОЛ, применяются в качестве временной замены эндокринной функции поджелудочной железы. Цель работы: подбор и отработка протоколов получения ДЦЛ матриксов органов свиньи, также оценка их целостности для создания микроокружения ОЛ.

В качестве объектов исследования использованы следующие органы: легкие и поджелудочная железа свиньи породы Визинау. Несколько фрагментов легкого, размером не более 1×1 см, последовательно выдерживались в 0,5% растворе Triton X-100 – 1 час, 0,5% растворе SDS – 1 час, 1% растворе SDC – 1 час и 0,075% растворе SDS – 41 час. В случае поджелудочной железы использовались следующие протоколы: несколько фрагментов поджелудочной железы, размером не более 0,5×0,5 см, последовательно выдерживались в 0,1% растворе SDS в $dH_2O$ – 1 час, 0,1 % растворе SDS в 1N NaCl $dH_2O$ – 1 час, 0,1% растворе SDS в PBS – 18 часов. Структуру матрикса и качество удаления клеточного компонента оценивали путем приготовления гистологических препаратов по методике окрашивания гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Содержание остаточной ДНК в ДЦЛ матриксах анализировали с использованием набора реагентов на спектрофотометре NanoDrop ND-2000. В ходе работы получены ДЦЛ матриксы органов свиньи. Для подобранных протоколов, как в случае легкого, так и в случае поджелудочной железы, показано высокое сохранение коллагеновых и эластиновых волокон и незначительное количество остаточной ДНК (20% в опытном образце легкого, в опытном образце поджелудочной железы – 11%, по отношению к контрольным образцам, соответственно). В дальнейшем данные протоколы могут быть использованы для создания тканеинженерных конструктов на основе ДЦЛ матриксов легкого и поджелудочной железы и инсулин-продуцирующих клеток поджелудочной железы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ГЗ № АААА-А20-120022590096-6 «Создание технологии инкапсуляции островков поджелудочной железы для компенсации абсолютных инсулин-дефицитных состояний».*

# ВЛИЯНИЕ ЗЕЛЕНЫХ НАСАЖДЕНИЙ КРУПНЫХ ПЛОЩАДЕЙ НИЖНЕГО НОВГОРОДА НА НЕКАНЦЕРОГЕННЫЙ РИСК РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НАСЕЛЕНИЯ

***А. Д. Большакова, Н. И. Зазнобина, В. Н. Якимов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*anzhela.bolschakova@yandex.ru*

Важной средообразующей услугой городских зеленых насаждений является очищение атмосферного воздуха от загрязняющих веществ, поступающих, главным образом, от передвижных источников.

Целью исследования является оценка снижения потенциального риска развития заболеваний у населения крупного города (на примере г. Н. Новгорода) по уровню очищения атмосферного воздуха от поллютантов зелеными насаждениями. В качестве модельных объектов были выбраны площади с максимальной транспортной загруженностью в Нагорной и Заречной частях Н. Новгорода.

В ходе работы рассчитаны концентрации приоритетных поллютантов на основании учета автомобильного трафика (в соответствии с ГОСТ Р 56162-2019), проведена инвентаризация древесно-кустарниковой растительности и оценен объем экосистемной услуги по снижению концентраций загрязняющих веществ (в соответствии с методологией iTree), а также рассчитан неканцерогенный риск здоровью населения от выбросов автотранспорта (согласно Руководству по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду 2.1.10.1920-04).

Максимально осаждаются на листовую поверхность мелкие взвешенные частицы PM2.5 и диоксид серы $SO_2$, в наименьшей степени происходит осаждение и изменение концентрации моноксида углерода CO. Наиболее заметное повышение качества воздуха зафиксировано на хорошо озелененной пл. Свободы, ничтожно малые изменения получены для пл. Комсомольской, на территории которой практически отсутствуют зеленые насаждения.

По результатам значений концентраций выбросов поллютантов от автотранспорта при существующем на данный момент озеленении объектов исследования оценен неканцерогенный риск развития заболеваемости населения. Рассчитаны значения коэффициентов опасности неканцерогенных веществ: $HQPM_{2.5}$ = 0,15, $HQPM_{10}$ = 0,03, HQCO = 0,32, $HQNO_2$ = 0,22, $HQSO_2$ = 0,79, $HQO_3$ = 0,28. Индекс опасности неканцерогенных веществ для органов верхних дыхательных путей принимал значение: HI = 2,2 (при отсутствии озеленения), HI = 1,8 (при реальном озеленении) и HI = 1,45 (при перспективном озеленении).

На основе созданных карт реального озеленения исследуемых площадей в программе QGIS Desktop были разработаны проекты по перспективному озеленению их территорий, при реализации которых индекс опасности риска развития заболеваемости верхних дыхательных путей у населения г. Н.Новгорода может снизиться на 27% в среднем по городу, что подтверждает важную роль зеленых насаждений в очищении атмосферного воздуха от загрязнения поллютантами.

*Работа выполнена в рамках реализации Программы стратегического академического лидерства "Приоритет 2030" "Комфортная окружающая среда" ННГУ (тема № Н-476-99_2021-2023).*

# ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА НА СТАНДАРТНУЮ ФИЗИЧЕСКУЮ НАГРУЗКУ

***И. В. Бочарин*[1], *А. К. Мартусевич*[1], *М. С. Гурьянов*[1, 2]**

[1]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *bocharin.ivan@mail.ru*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Целью исследования послужило изучение срочной адаптации организма студентов на стандартную физическую нагрузку и особенностей процессов восстановления в постнагрузочном периоде на основании гемодинамической и вегетативной реактивности. В исследовании принимали участие 70 студентов мужского пола 1-3 курсов обучения. В качестве нагрузочного комплекса использовались упражнения ВФСК ГТО. В качестве мониторинга использовались гемодинамические показатели и параметры вариабельности сердечного ритма. Изучались механизмы срочной адаптации на физическую нагрузку, а также процессы восстановления. Результаты представлены в виде среднего значения и среднеквадратического отклонения. Нормальность распределения осуществлялась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Кластерный анализ испытуемых в постнагрузочном периоде выполнялся с помощью метода К-средних. Отличия считали статистически значимыми при значениях $p<0,05$ (по t-критерию Стьюдента). При выполнении физических упражнений наблюдался наибольший рост гемодинамических показателей после бега на 100 м и подтягиваний с одновременным снижением ОПСС. При этом временные показатели ВСР показали статистически значимое снижение в ответ на воздействие вышеуказанных упражнений, что предполагает наличие тенденции к централизации кардиоритма. Кроме того, с учетом изменения спектральных характеристик ВСР, отмечается вегетативного баланса в сторону преобладания симпатической стимуляции сердечного ритма с угнетением парасимпатического контура регуляции, а также уменьшение общей мощности спектра. Это подтверждает и изменение соотношения низкочастотной и высокочастотной мощностей спектра, а анализ SI показал его приближение к пограничному значению, что характеризуется значительным влиянием стресс-фактора, а именно – физических упражнений. В постнагрузочном периоде определились 3 кластера, учитывающие разнонаправленные изменения регуляторных механизмов. Предполагается, что представители 3 кластера имеют сниженные адаптационные резервы, что подтверждается динамикой изменений изучаемых показателей в течение восстановительного периода.

Таким образом, бег на 100 метров и подтягивания из виса на перекладине продемонстрировали значительные изменения гемодинамических показателей и параметров вариабельности сердечного ритма в качестве срочного адаптационного ответа организма на стандартную физическую нагрузку. Кроме того, в восстановительном периоде наблюдается наличие состояния, близкого к дезадаптации у студентов 3 кластера.

# ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ЛАКТОБАЦИЛЛЫ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ВЕКТОР ДЛЯ СОЗДАНИЯ МУКОЗАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

***Н. Л. Бруслик*[1], *С. Н. Куликов*[1, 2], *Ю. А. Тюрин*[1, 3]**

[1]Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; *nbruslik@yandex.ru*

[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18

[3]Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

COVID-19 представляет собой острое респираторное вирусное заболевание, вызываемое РНК-содержащим вирусом SARS-CoV-2. Поскольку основными входными воротами для SARS-CoV-2 являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, мукозальное введение вакцинных препаратов может служить перспективным подходом для быстрой и эффективной иммунизации против коронавирусной инфекции. В отличие от внутримышечных вакцин мукозальные вакцины стимулируют не только общий, но и местный иммунный ответ с высокой продукцией IgA, который обнаруживается в слизистых секретах. Таким образом, мукозальные вакцины способны индуцировать иммунную защиту непосредственно в месте проникновения потенциального патогена, что приводит к нейтрализации вирусных агентов уже на уровне входных ворот.

В настоящее время широко признано, что генетически модифицированные микроорганизмы, включая пробиотики, представляют собой привлекательные носители для доставки терапевтических молекул через слизистые оболочки полости рта или носа. В частности, использование бактерий рода *Lactobacillus* позволяет получить безопасные и в то же время эффективные векторы для переноса вирусных белков к клеткам-мишеням. Неоспоримым преимуществом использования лактобацилл является их GRAS-статус (Generally recognized as safe). Являясь представителями кишечной нормофлоры, лактобациллы практически не способны вызывать инфекционных процессов в организме человека. В то же время лактобациллы обладают высоким адгезивным потенциалом и могут блокировать рецепторы на поверхности эпителиоцитов (в частности рецептор АПФ2), используемые вирусными частицами для проникновения в клетки организма-хозяина. В дополнении *in silico* анализ показал, что некоторые бактериоцины, продуцируемые лактобациллами, обладают высоким сродством к спайковому белку коронавируса, что также снижает вероятность его контакта с рецепторами на поверхности эпителиоцитов. Так в ходе оценки межмолекулярного взаимодействия установлено, что свободная энергия связывания сакацина P (*Lactobacillus sakei*) и курвацина A (*Lactobacillus curvatus*) с S1 доменом спайкового белка SARS-CoV-2 составляет -817.4 ккал и -750.1 ккал, соответственно. Данные показатели свидетельствуют об эффективном взаимодействии данных пептидов со спайковым белком коронавируса. Также следует отметить иммуномодулирующую активность лактобацилл. В частности установлено, что некоторые штаммы лактобацилл способны снижать продукцию провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IFN-α), а также стимулировать повышенную выработку нейтрализующих антител против SARS-CoV-2.

Таким образом, биологические свойства лактобацилл свидетельствуют о перспективе их использования в качестве вектора при разработке мукозальных вакцин для профилактики коронавирусной инфекции.

# АНАЛИЗ ПРОДУКЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И ЕГО ВОЗМОЖНОЕ ВЛИЯНИЕ НА ИНИЦИАЦИЮ ЭФФЕКТА СВИДЕТЕЛЯ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

***Ю. С. Бугрова, А. А. Горохова, Н. Н. Пескова, И. В. Балалаева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*yla.bugrova@yandex.ru*

Процесс, при котором подвергшиеся стрессовому воздействию клетки способны посылать сигналы необлучённым клеткам, приводящие к ответу последних, носит название «эффект свидетеля» (ЭС). Механизмы развития ответа у свидетелей при фотодинамической терапии (ФДТ) до настоящего времени изучены слабо. ЭС может инициироваться через межклеточную коммуникацию и/или диффузию растворимых факторов, включая активные формы кислорода (АФК). Особое внимание к пероксиду водорода обусловлено его ролью как ключевого медиатора окислительного стресса и важного вторичного мессенджера в клетке. Целью данного исследования стал анализ продукции пероксида водорода при фотодинамическом воздействии на культуру клеток и оценка его потенциальной роли как межклеточного сигнала при инициации эффекта свидетеля.

Клеточная линия эпидермоидной карциномы человека A431-HyPer-cyto, трансфицированная генетически-кодируемым флуоресцентным сенсором HyPer, выступала в качестве объекта исследования. HyPer чувствителен к изменениям уровня $H_2O_2$, что позволяет наблюдать его динамику в клетках. Количественные данные об изменениях концентрации $H_2O_2$ получали путём определения ратиометрического индекса I488/I405, который рассчитывается как отношение интенсивности сигнала флуоресценции окисленной и восстановленной формы белка HyPer при их последовательном возбуждении на 405 и 488 нм. В качестве фотосенсибилизатора использовали фотосенс (ФГУП ГНЦ «НИОПИК») – смесь натриевых солей сульфированного фталоцианина алюминия. Изображения клеток получали методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии Axio Observer Z1 LSM-710 (Carl Zeiss, Германия). Запуск фотодинамической реакции осуществляли путём локального воздействия на единичную клетку через объектив микроскопа светом с длиной волны 633 нм в диапазоне доз от 50 до 150 Дж/см$^2$.

Результаты данного исследования показали увеличения уровня $H_2O_2$ как в клетке-мишени, так и в необлученных клетках-свидетелях. Статистически значимое возрастание уровня I488/I405 в клетках-свидетелях наблюдалось спустя 10–15 минут после локального ФДТ и продолжалось в течение более 90 минут. Ответ наиболее удалённых необлучённых клеток наступал позднее, чем контактирующих с облучённой клеткой. При внесении в среду каталазы ответ регистрировали только у облученной клетки. Данные факты согласуются с литературными данными о роли пероксида водорода как потенциального инициатора некоторых сигнальных каскадов при ФТД. В связи с этим можно предположить, что $H_2O_2$ способен диффундировать в клетки-свидетели и инициировать удалённое окислительное повреждение.

*Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ (договор № 075-15-2022-293).*

# ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

***П. А. Буреев*[1], *В. В. Елагин*[2], *Н. И. Игнатова*[2], *И. А. Будруев*[1], *О. С. Стрельцова*[2], *В. А. Каменский*[2, 3], *А. Э. Антонян*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*bureev.pavel34@gmail.com*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

[3]Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Антибактериальная фотодинамическая терапия (АФДТ) является многообещающим способом борьбы с инфекциями, вызванными бактериями с множественной устойчивостью к антибиотикам. Была показана эффективность АФДТ против грамположительных бактерий. Однако, в отношении грамотрицательных организмов АФДТ остается менее действенной. Целью данной работы было изучение возможностей повышения эффективности АФДТ с Фотодитазином против уропатогенных штаммов грамотрицательных бактерий. В работе использовались уропатогенные штаммы *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* и *Proteus mirabilis,* полученные от пациентов с мочекаменной болезнью и хранящиеся в музее НИИ ЭО и БМТ.

Для экспериментов использовались суточные культуры микроорганизмов, разведенные до концентрации $2 \cdot 10^8$КОЕ/мл. К образцам добавляли Фотодитазин до конечной концентрации 50 мкг/мл, а также Triton X-100 и Tween 80 (1%, 5%, 10%) для повышения проникновения фотосенсибилизатора внутрь клеток. После 15-ти минутной инкубации в темноте при комнатной температуре часть образцов отмывали от несвязавшегося фотосенсибилизатора и облучали. Облучение проводили в течение 10 минут диодным лазером с длиной волны 662 нм и выходной мощностью 150, 300 и 450 мВт. Воздействие осуществляли в непрерывном или импульсном режимах генерации излучения. Длительность импульса составляла 10 мс, частота следования – 50 Гц. Эффективность АФДТ оценивали по значению логарифмического сокращения КОЕ.

В ходе исследования было установлено, что низкие концентрации Triton X-100 и Tween 80 не оказали влияния на эффективность АФДТ. В случае концентрации 10%, Triton X-100 приводил к большему снижению КОЕ после АФДТ, чем Tween 80. Удаление фотосенсибилизатора из внеклеточной среды приводило потере эффективности АФДТ в отношении *K. pneumoniae*, для остальных видов она значительно снижалась. Только в случае *P. mirabilis* отмывка Фотодитазина не приводила к снижению эффективности АФДТ. Использование импульсного режима облучения сопровождалось снижением эффективности АФДТ в отношении *E. coli* при выходной мощности 450 мВт, а в отношении *P. mirabilis* – при 300 мВт. Было показано, что использование Triton X-100 значительно повышает эффективность АФДТ. Важную роль также играет наличие фотосенсибилизатора во внеклеточной среде. Однако, эффективность АФДТ незначительно снижается при использовании импульсного режима облучения.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект №21-15-00371.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАТЕРИТА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПОРФИРАЗИНОВОЙ ПРИРОДЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ Т24

***Н. Е. Галочкина*[1], *Л. Н. Шестакова*[1], *А. О. Белотелов*[1], *Д. Б. Трушина*[2], *Л. Г. Клапшина*[3], *Н. Ю. Шилягина*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *natalia.volkova.unn@yandex.ru*

[2]Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8

[3]Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это перспективный метод лечения онкологических заболеваний, в том числе заболеваний опухолей мочевого пузыря. Для её реализации фотоактивное соединение – фотосенсибилизатор (ФС) – вводится либо в кровоток, либо внутрипузырно. Далее к опухолевому участку с помощью световода подводится лазерное излучение для активации ФС и развития последующих фотохимических процессов, которые и вызывают гибель опухолевых клеток.

Существенным ограничением для применения многих ФС является тот факт, что для накопления в опухолевой ткани эффективных концентраций требуется введение их в больших дозах. В качестве системы доставки лекарственных препаратов большой интерес представляют нано- и микрочастицы карбоната кальция в полиморфной модификации ватерит.

Целью данной работы было исследование субмикронных частиц ватерита в качестве агентов для избирательной доставки фотосенсибилизатора порфиразиновой природы в эксперименте на клеточной культуре рака мочевого пузыря Т24.

В работе исследовали тетракис(4-бензилоксифенил)тетрацианопорфиразин (PzBn), синтезированный в ИМХ РАН г. Н. Новгорода, в свободной форме и в составе субмикронных (500 нм) частиц ватерита, синтезированных в ПМГМУ им. И.М. Сеченова.

С помощью метода спектрофотофлуориметрии нами было показано, что PzBn имеет два максимума поглощения, локализованных на 360 нм и 590 нм, максимум флуоресценции на длине волны 675 нм.

Анализ внутриклеточной локализации PzBn в свободной форме и в составе частиц ватерита, проведенный методом лазерной сканирующей микроскопии с использованием специфических красителей на органеллы показал, что свободный PzBn накапливается в цитоплазме клеток, преимущественно локализуясь в околоядерной области клетки, PzBn в составе частиц ватерита демонстрирует тенденцию к «налипанию» на мембранные структуры клетки – наружную мембрану клеток и эндоплазматический ретикулум.

Методом МТТ-теста нами было показано, что частицы ватерита в исследуемом диапазоне концентраций не являются токсичными для клеток Т24 как при инкубации в темноте, так и на свету. Выбранный диапазон соответствовал таковому при внесении загруженных частиц. Продемонстрирована высокая световая токсичность PzBn в свободной форме. Показано, что использование частиц ватерита снижает темновую токсичнсоть PzBn при сохранении его фотодинамической активности.

Таким образом в ходе исследования нами продемонстрировано, что частицы ватерита являются перспективными агентами для избирательной доставки противоопухолевых соединений, в частности фотосенсибилизаторов, направленных на терапию рака мочевого пузыря.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 21-74-10058).*

# ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ, АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ БОРОСИЛОКСАНА, ПОЛИ(ЛАКТИД-КО-ГЛИКОЛИДА) И ПОЛИТЕТРФТОРЭТИЛЕНА, ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ ($ZnO$, $Fe_2O_3$, $Al_2O_3$)

***Д. Е. Бурмистров*, *А. В. Симакин*, *И. В. Баймлер*, *Д. Н. Чаусов*, *С. В. Гудков***
Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991 ГСП-1, Москва, ул. Вавилова, 38;
*dmitriiburmistroff@gmail.com*

В ходе работы были синтезированы наночастицы оксидов металлов ($ZnO$, $Fe_2O_3$ и $Al_2O_3$) методом лазерной абляции в воде. Максимумы распределений ζ-потенциала полученных коллоидных растворов НЧ составляли 20, 20, 50 мВ для НЧ $ZnO$, $Fe_2O_3$ и $Al_2O_3$, соответственно, что характеризовало коллоидные растворы НЧ как стабильные. Состав наночастиц был установлен при помощи энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX), морфологию оценивали с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Наночастицы обладали необходимой химической чистотой. Было установлено, что НЧ $ZnO$ имеют стержнеобразную морфологию, а НЧ $Fe_2O_3$ и $Al_2O_3$ сферическую. Средний гидродинамический диаметр НЧ оценивался с помощью динамического светорассеяния (DLS) и составлял около 55, 50 и 45 нм для НЧ $ZnO$, $Fe_2O_3$ и $Al_2O_3$, соответственно. С помощью разработанной низкотемпературной технологии полученные НЧ были добавлены в полимеры поли(лактид-ко-гликолида) (ПЛГА) и боросилоксана (БС), а также политетрафторэтилена (ПТФЭ) с конечными концентрациями НЧ в образцах материалов 0,001, 0,01 и 0,1%. Для дальнейших исследований материалы были сформированы в пленки толщиной 700–900 мкм (для БС и ПЛГА) и 200 мкм для ПТФЭ. Морфология поверхности материалов оценивалась с помощью атомно-силовой микроскопии. Было установлено, что поверхность образцов композитных материалов была бездефектной. С помощью модуляционно-интерференционной микроскопии было установлено, что наночастицы распределены в объеме полимеров в виде кластеров, размер которых увеличивался с ростом концентрации НЧ. Было показано, что все полученные нанокомпозиты проявляли бактериостатические свойства в отношении *E. coli*. Важно отметить, что данный эффект был обнаружен даже при использовании композитов с минимальной концентрацией НЧ $ZnO$, $Fe_2O_3$ в составе (0,001%), однако значимые различия при культивировании в контакте с композитами, содержащими НЧ $Al_2O_3$, наблюдались при концентрации данных НЧ в полимере 0,01 и 0,1%. Композитные материалы способствовали формированию АФК в водных растворах (перекиси водорода и гидроксильных радикалов). Установлено, что полученные материалы способствовали образованию долгоживущих реактивных форм белков и 8-оксогуанина в ДНК. Композитные материалы, содержащие НЧ $Al_2O_3$ проявляли активность слабее по сравнению с материалами, содержащими НЧ $Fe_2O_3$ и НЧ $ZnO$. В свою очередь, проведенные исследования цитотоксичности материалов в отношении клеток линии SH-SY5Y и первичных культур фибробластов легких мыши показали, что поверхности пленок композитных материалов на основе всех рассматриваемых полимерных матриц, содержащих НЧ $ZnO$, $Fe_2O_3$ и $Al_2O_3$, подходили для роста и развития данных клеток. Полученные композитные материалы представляют большой интерес в качестве покрытий для пищевой промышленности и биомедицинского применения.

*Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на крупные научные проекты по приоритетным направлениям научно-технического развития (грант № 075-15-2020-775).*

# ОСЕННЕЕ НАСЕЛЕНИЕ ПТИЦ РАЙФСКОГО УЧАСТКА ВОЛЖСКО-КАМСКОГО ЗАПОВЕДНИКА И ЛЕСОПАРКА «ДУБРАВА» (КАЗАНЬ) В 2022 ГОДУ

***В. С. Бушкова***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*verus58@yandex.ru*

Население лесных птиц в различные сезоны, в том числе осенью, может служить характеристикой состояния экосистем. Исследование проводилось в осенний период 2022 года методом маршрутного учета без ограничения полосы, 2 раза в месяц в каждом из следующих местообитаний: 1) Сосняк с подростом ели в Раифском участке Волжско-Камского заповедника (ВКГПБЗ); 2) Липняк с подростом ели и участием других лиственных пород, там же; 3) Широколиственный лес рядом с ул. Дубравная в городе Казань (лесопарк «Дубрава»). Общая длина пройденных маршрутов – 89,3 км. Обработка данных осуществлялась с помощью MS Excel и PAST 4.11.

Всего встречено 56 видов птиц из 20 семейств и 6 отрядов. Большая часть видов (43) относится к отряду Воробьинообразные; среди семейств преобладают Вьюрковые (9 видов), Врановые и Синицевые (по 6). Наибольшее видовое богатство на всех участках наблюдается в октябре, когда уже встречаются на кочевках будущие зимовщики (свиристель, чечетка) и пролетные птицы (вьюрок, крапивник, лесная завирушка), но еще не улетели многие перелетные виды. Сходство фаун по Жаккару наиболее высокое между 2 частями заповедника (тогда как в гнездовой период значения индекса выше всего между лесопарком и липняком ВКГПБЗ). Лесопарк отличается, в основном, за счет наличия синантропных видов (сизый голубь, галка, белая трясогузка, полевой и домовый воробей).

В липняке ВКГПБЗ суммарное обилие снижается от сентября (284,5 экз/км$^2$) к ноябрю (191,6), тогда как в сосняке оно почти не меняется (268,0 - 301,1), а в лесопарке повышается от 134,8 до 268,8 экз/км$^2$. Биоразнообразие же, оцененное по нескольким индексам, на обеих частях ВКГПБЗ остается относительно постоянным и высоким, тогда как в лесопарке заметно снижается. Это связано, в первую очередь, с активной прикочевкой в город большой синицы, чья доля в населении лесопарка растет от 30,7% в сентябре до 53,4% в ноябре. Кроме нее, значительную долю участия в сентябре имеет зяблик, всю осень - лазоревка и поползень. Численность большой синицы в ВКГПБЗ высока лишь в начале осени, затем снижается. Среди преобладающих видов наблюдаются другие синицы: черноголовая гаичка (в липняке), московка и пухляк (в сосняке), а также большой пестрый дятел, поползень и длиннохвостая синица (до 23,3% в ноябре).

В ходе исследования встречены регионально охраняемые виды птиц: в ВКГПБЗ – седой дятел, уральская неясыть, на пролете – серый журавль; в лесопарке – ушастая сова и седой дятел, найдено перо уральской неясыти.

Можно заключить, что фауна и население птиц на изучаемых участках в ходе осени динамично изменяются, при этом в заповеднике сохраняется высокое видовое разнообразие. Влияние антропогенного фактора в лесопарке приводит к росту численности и снижению биоразнообразия к зиме, а также делает возможным присутствие синантропных видов.

# МЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЛЬГИНАТНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ, СШИТЫХ ДВУХ- И ТРЁХВАЛЕНТНЫМИ ИОНАМИ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

***С. О. Ваганова*[1], *Ю. М. Ефремов*[2], *Д. Б. Трушина*[2], *А. В. Звягин*[2]**

[1]Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Миусская пл., 9; *sofivag@mail.ru*

[2]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

Рак мочевого пузыря является серьезным заболеванием, трудно поддающимся лечению в настоящее время. Радикальным способом лечения является трансуретральная резекция, после которой назначается курс химиотерапии. Препараты обычно вводятся в организм перорально или внутривенно, что сопряжено со значительными побочными эффектами. Внутрипузырное введение препаратов позволяет снизить вводимую дозу и уменьшить токсическое воздействие на организм, но регулярное опорожнение мочевого пузыря не позволяет поддерживать оптимальную концентрацию в целевой области. Для решения проблемы предлагается создать систему локальной депо–доставки на основе альгината натрия, вводимого в мышечную стенку мочевого пузыря в непосредственной близости к опухоли. Активное вещество, иммобилизованное в полисахаридном гидрогеле, будет постепенно высвобождаться в ходе биодеградации гидрогеля и создавать необходимую концентрацию вблизи опухолевой ткани. Поскольку гидрогель долго будет находиться в мышечной ткани мочевого пузыря, важно, чтобы его механические характеристики были близки к биомеханике тканей. Целью работы является разработка системы инкапсулирования препарата на основе альгинатного гидрогеля, который будет желироваться непосредственно в ткани мочевого пузыря и обладать близкими к ней механическими характеристиками.

Гидрогели получали с помощью добавления ионов $Ca^{2+}$ и $Fe^{3+}$ в водный раствор альгината натрия, в результате которого происходит образование связей между гулуронатным фрагментом молекулы полисахарида и атомом металла. Для серии образцов гелей взяты концентрации: альгинат натрия 2 вес.% и сшивающие ионы $Ca^{2+}$и $Fe^{3+}$ 0,5-1,0 вес.%. Исследование механических характеристик полученной серии гидрогелей проведено на ротационном реометре Physica MCR 502 (AntonPaar). Для регистрации модуля упругости и момента нарушения структуры геля при разных концентрациях ионов использовали частотные и амплитудные тесты.

В ходе частотного теста была подтверждена гипотеза, что с увеличением концентрации сшивающего иона увеличивается модуль сохранения и модуль упругости. У $Ca^{2+}$ и $Fe^{3+}$ разный диапазон модулей упругости, так как связь с трёхвалентным железом и карбоксигруппой полимера прочнее, чем с двухвалентным кальцием, соответственно, упругость и плотность геля с $Fe^{3+}$ выше. В ходе амплитудного теста установлено, что при повышении концентрации сшивающего катиона увеличивается и устойчивость геля к разрушению.

Модуль упругости стенки мочевого пузыря берётся как модуль упругости мышечной ткани – $9{,}32 \cdot 10^5$ Па. Рассчитано, что при концентрации сшивающего катиона 1 вес.% с $Ca^{2+}$ модуль упругости геля составляет $2{,}9 \cdot 10^4$ Па, а с использованием катиона $Fe^{3+}$ – $2{,}6 \cdot 10^5$ Па. Так как модуль Юнга биоткани равен $9{,}32 \cdot 10^5$ Па, то разработанные гели могут использоваться в ткани мочевом пузыре.

# ОЦЕНКА ПРОНИКНОВЕНИЯ АНТИ-NKG2DL CAR-T КЛЕТОК В 3D КЛЕТОЧНУЮ МОДЕЛЬ СОЛИДНОЙ ОПУХОЛИ, ВЫРАЩЕННУЮ В КАРТРИДЖНОМ БИОРЕАКТОРЕ VITVO

***А. Х. Валиуллина*, *Е. А. Змиевская*, *И. А. Ганеева*, *М. Н. Журавлева*, *Э. Р. Булатов***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*aigul1692@mail.ru*

Онкологические заболевания традиционно занимают второе место в структуре общей смертности, уступая сердечно-сосудистым заболеваниям. Выбор метода терапии онкологических заболеваний определяется нозологией опухоли. В связи с этим большое внимание привлекают методы, сочетающие в себе индивидуальный подход и универсальность. Адоптивная клеточная терапия, в том числе CAR-T клеточная терапия, является таким инструментом. На сегодняшний день активно изучаемыми с точки зрения безопасности и эффективности для нацеливания на солидные опухоли являются анти-NKG2DL CAR-T-клетки и NK-клетки. Целью работы являлось изучение эффективности анти-NKG2DL CAR-T-клеток против модифицированной опухолевой клеточной линии карциномы предстательной железы PC3M.

Мононуклеарные клетки периферической крови здоровых доноров (МКПК) использовали для создания анти-NKG2DL CAR-T-клеток с применением лентивирусной трансдукции. Эффективность трансдукции и количество полученных CAR-T-клеток оценивали с помощью проточного цитофлуориметра FACS Aria III с использованием антител против NKG2D. В качестве модели солидной опухоли использовали трехмерные опухолеподобные структуры на основе клеток PC3M-Katushka2S, созданные с помощью картриджного биореактора Vitvo (Rigenerand). Проникновение анти-NKG2DL CAR-T клеток вглубь 3D-модели оценивали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 700 (Zeiss).

Эффективность трансдукции Т-клеток лентивирусом составила 26%. Установлено, что CAR-T клетки после добавления в картриджный биореактор мигрировали к мембране с клетками PC3M-Katushka2S и в дальнейшем также располагались преимущественно на мембране или вблизи нее. В то же время контрольные Т-клетки, наоборот, располагались преимущественно в толще культуральной среды и практически не мигрировали к опухолевым клеткам. Через 120 часов в экспериментальном образце выявлено CAR-T-опосредованное снижение числа клеток PC3M-Katushka2S и их пролиферации по сравнению с контрольным образцом (Т-клетки).

Анти-NKG2DL CAR-T клетки способны мигрировать вглубь 3D модели солидной опухоли на основе клеток PC3M-Katushka2S, созданной с помощью картриджного биореактора Vitvo (Rigenerand), и эффективно элиминировать опухолевые клетки.

*Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект № FZSM-2022-0016).*

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФАКТОРА ФОРМЫ ЛИСТЬЕВ ЛИПЫ МЕЛКОЛИСТНОЙ (*TILIA CORDATA*) КАК БИОДАТЧИКА ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКОЙ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ

***И. Н. Вальков***

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1; *biotech.valkov@gmail.com*

В связи с распространенностью такой проблемы как загрязнение городского воздуха существует потребность в методах долгосрочного мониторинга состояния воздушной среды или здоровья среды. Согласно предлагаемой методике, листья липы мелколистной (*Tilia cordata*) являются комплексным биодатчиками, непрерывно подвергающимися воздействию негативных факторов среды. Выбор липы обусловлен ее широким применением для озеленения в нашей стране и за рубежом. Для оценки изменения состояния листьев использован фактор формы (ФФ), характеризующий удлиненность листа, который вычисляли по формуле: $ФФ = 4\pi S/P^2$, где S – площадь листа, P – его периметр.

В городе выбрали 2 точки: первая – с предположительно загрязнённым воздухом, на перекрёстке вблизи автобусного вокзала; вторая – с предположительно чистым воздухом, контрольная, в жилом квартале. В каждой экспериментальной точке взяли от 100 до 200 листьев от 2–3 деревьев. Затем их сканировали на планшетных сканерах Epson Perfection V370 Photo, с разрешением 300 dpi, впоследствии вычисляли ФФ.

Для каждой точки рассчитывали среднее значение фактора формы и сравнивали значение для загрязнённой точки с контролем. Такой анализ проводили по данным 2018, 2021, 2022 гг. Значения ФФ в контрольной и «грязной» точках соответственно составили: в 2018 г: 0,385 и 0,343; в 2021 г: 0,286 и 0,295; в 2022 г: 0,309 и 0,266. Гипотезу о равенстве средних для чистой и грязной точек проверяли при помощи двухвыборочного t-критерия для независимых случайных величин. Значения t-статистики и t критич. составили: в 2018 г: 4,422 и 2,0242; в 2021 г: 1,928 и 1,9759; в 2022 г: 9,458 и 1,9679. То есть, для 2018 и 2022 года можно отвергнуть гипотезу о равенстве и говорить о достоверных различиях.

За указанный период наблюдается постепенное снижение значений ФФ как в «чистой» точке, так и в «грязной», где листья растений подвергаются воздействию негативных факторов. Подобная динамика свидетельствует о постепенном ухудшении здоровья среды.

Такой способ оценки состояния среды даёт возможность проведения долгосрочного мониторинга с использованием листьев липы мелколистной в качестве биодатчика, подвергающегося воздействию загрязняющих факторов непрерывно. Это существенное отличие от единоразовых измерений при помощи физических и химических датчиков.

В дальнейшем планируется апробация методики по материалам, полученным в г. Серпухов, а также создание новых алгоритмов определения состояния листьев.

# ТРЕХМЕРНЫЕ МОДЕЛИ ГЛИОМЫ НА ОСНОВЕ МАТЕРИАЛА ОТ ПАЦИЕНТА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ИММУНОТЕРАПИИ ЧЕК-ПОИНТ ИНГИБИТОРАМИ

***О. А. Ванцева*[1], *М. М. Сажина*[2], *Д. А. Сачкова*[1, 2], *А. В. Изосимова*[1, 2], *А. Р. Кондратьева*[2], *И. Н. Дружкова*[2], *К. С. Яшин*[2], *Д. В. Южакова*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*olesyavanceva04@gmail.com*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Одной из главных проблем в области иммунотерапии глиом являются недостаточные знания об индивидуальных особенностях ее микроокружения и иммунного ответа пациента. Именно поэтому важен переход от «устоявшихся» библиотечных глиомных линий и монослойных культур к использованию пациент-специфических моделей, приближенных по структуре к солидной опухоли. Целью исследования была разработка 3D моделей глиомы на основе материала от пациента для исследования механизмов иммунотерапии чек-поинт ингибиторами.

Исследования проводили с использованием материала от пациентов со злокачественными астроцитомами (Grade II-III), прооперированных в Университетской клинике ПИМУ. Мониторинг роста и контроль жизнеспособности и морфологии клеток осуществлялся с помощью инвертированного микроскопа Leica DM IL LED. Для анализа субпопуляционного состава и активационного профиля лимфоцитов использовали клеточный сортер BD FACSAria III.

Набрана библиотека краткосрочных культур опухолевых клеток и лимфоцитов, выделенных из первичного материала пациентов. Было апробировано 2 вида трехмерных *in vitro* моделей глиомы: культивируемый фрагмент опухолевой ткани и 3D опухолевый сфероид. Разработан оригинальный протокол моделирования иммунного микроокружения для каждого вида 3D системы.

Установлено, что в обоих случаях лимфоциты в присутствии опухолевых антигенов сохраняют жизнеспособность и активно пролиферируют.

В случае модели на основе эксплантата иммунные клетки распределяются непосредственно над опухолевыми клетками и формируют кластеры вокруг них. Систему можно поддерживать в течение нескольких недель, удобно наблюдать за её морфологией. Однако проблематично провести количественные анализы, не разрушая систему.

В случае опухолевого сфероида лимфоциты формируют шарообразную структуру вокруг него. Внутренний слой состоит из темных покоящихся клеток, наружный слой из светлых, живых клеток. Данная система требует больших затрат: времени для формирования и манипуляций с первичными клетками. Однако есть возможность количественно оценить размеры слоев лимфоцитов и сфероида для анализа ответа на терапию.

Продемонстрировано, что обе модели способны отражать гетерогенный ответ клеток отдельных пациентов на анти-CTLA-4 и анти-PD-1 чекпоинт иммунотерапию. В части случаев наблюдалась активная пролиферация лимфоцитов одновременно со снижением числа опухолевых клеток. Тогда как в других случаях наблюдался прогрессирующий рост опухолевой модели и увеличение количества мертвых иммунных клеток. Наблюдаемые изменения коррелировали с уровнем экспрессии активационного маркера CD25 в пуле CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток.

*Работа поддержана Грантом Президента № МК-2092.2022.3.*

# ЭФИППИУМЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SIMOCEPHALUS* SCHÖDLER, 1858 (CRUSTACEA*:* CLADOCERA) В ОТЛОЖЕНИЯХ ПОЗДНЕГО ПЛЕЙСТОЦЕНА СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ЕВРАЗИИ И АЛЯСКИ

***Е. Д. Варакина*[1, 2], *А. Н. Неретина*[1]**

[1]Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33; *liza.varakina.2018@mail.ru*

[2]Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы Минина, 603005, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1

Систематика рецентных представителей рода *Simocephalus* Schödler, 1858 (Cladocera: Daphniidae) в значительной степени основана на морфологических особенностях партеногенетических самок, таких как форма тела и строение постабдомена. В то же время, в ископаемом материале *Simocephalus*, как и другие виды семейства Daphniidae, как правило, представлены фрагментами мандибул или эфиппиумами, которые из-за недостатка данных по морфологии крайне сложно идентифицировать. Но если встречаемость мандибул в ископаемом материале крайне низкая, то эфиппиумы могут быть очень многочисленными и представляют собой удобный объект для морфолого-таксономических исследований. Цель нашей работы заключалась в определении ископаемых представителей *Simocephalus* в отложениях позднеплейстоценового возраста из нескольких местонахождений в Северо-Восточной части Евразии и Аляски с учетом новых оригинальных данных по эфиппиумам рецентных групп видов.

Материалом для работы послужили ископаемые эфиппиумы *Simocephalus* из материалов Янской стоянки, стоянки Белый Яр, рек Чукочья и Титалук. Эфиппиумы при помощи углеродного электропроводного скотча наклеивали на алюминиевые держатели и напыляли золотом в установке S150A Sputter Coater (Edwards, Великобритания). Полученный материал помещали в камеру микроскопа TESCAN MIRA 3 LMH (TESCAN, Чехия) и исследовали при 10 кВ в режиме вторичных электронов.

В ископаемом материале нами были выделены три морфотипа эфиппиумов, хорошо согласующихся с рецентными морфотипами, описанными нами ранее (Варакина и др., 2022): (1) эфиппиумы с гладкими бугорками, отчётливо выступающими над поверхностью; (2) эфиппиумы с гладкими пологими бугорками; (3) эфиппиумы с бугорками, покрытыми отростками и отчётливо выступающими над поверхностью. Это указывает на то, что в конце плейстоцена фауна *Simocephalus* была достаточно разнообразной по числу морфологических видов и сходна с рецентной фауной.

По числу найденных в исследованном ископаемом материале эфиппиумов род *Simocephalus* уступает лишь роду *Daphnia* O.F. Müller, 1785. Это указывает на ведущую роль *Simocephalus* в водоемах, существовавших в Северо-Восточной части Евразии и на Аляске в конце плейстоцена. Особенности экологии и биологии рода позволяет описать водные объекты, в которых формировались отложения, содержащие эфиппиумы *Simocephalus*, как неглубокие водоёмы с развитой зоной макрофитов.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект № 22-14-00258).*

# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПРОФИЛЬ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ВЭБ-АССОЦИИРОВАННОГО РАКА ЖЕЛУДКА

***А. С. Васильева*[1], *А. Д. Молчанов*[2], *К. В. Смирнова*[1]**

[1]НМИЦ Онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115522, Москва, Каширское шоссе, 23; *araukariaaraukarievna@gmail.com*

[2]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

Рак желудка (РЖ) является одним из наиболее широко распространенных злокачественных заболеваний в мире и России. Согласно статистическим данным, заболеваемость РЖ за 2021 год в России находится на шестом месте среди других опухолей. Согласно классификации типов рака желудка, основанной на данных TCGA (The Cancer Genome Atlas), выделяют 4 формы этой злокачественной патологии: ассоциированный с вирусом Эпштейн-Барр (ВЭБ), MSI-нестабильный, с хромосомной нестабильностью и геномно-стабильный. По клиническим данным ВЭБ-ассоциированная форма РЖ считается наиболее благоприятной с точки зрения лечения. Поэтому важно выявлять и дифференцировать эти типы на ранних этапах развития, используя подходы жидкостной биопсии и определение опухолеспецифических маркеров в периферической крови и других биологических жидкостях организма.

Образцы периферической крови были получены от пациентов, проходящих лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Из всех образцов в дальнейшем выделялась ДНК, используя стандартные лабораторные методы, которая использовалась в качестве матрицы для определения количества циркулирующих вирусных копий ДНК с помощью ПЦР в режиме реального времени.

Всего за период с 2020 по 2022 гг. была собрана коллекция, состоящая из 109 образцов плазмы и более 100 образцов цельной крови пациентов с диагнозом аденокарцинома желудка, которые были проанализированы на присутствие специфических фрагментов ДНК ВЭБ. Используя оптимизированный нами способ выявления вирусной ДНК в образцах плазмы крови больных было показано, что среди собранной коллекции образцов плазмы у 21% пациентов обнаружены специфические фрагменты вирусной ДНК, при этом большинство из них (80%) мужчины.

Проведенные исследования показали, что показатели концентрации циркулирующей вирусной ДНК могут быть и в не эндемичных странах эффективным дополнительным инструментом установления диагноза РЖ. При этом показано, что среди российской популяции больных РЖ, ВЭБ-ассоциированный тип изучаемой онкопатологии встречается чаще, чем на других неэндемичных территориях. Однако это требует проведения дополнительных расширенных исследований.

# GENETIC PREDISPOSITION IN THE PATHOGENESIS OF OSTEOPOROSIS

***G. Vasilyeva*[1], *I. Neganova*[2], *J. Sopova*[3], *O. Krasnova*[2], *A. Zhuk*[1]**
[1]ITMO University, 191002, St. Petersburg, Lomonosova st., 9; *vip.giomar@mail.ru*
[2]Institute of Citology RAS, 194064, St. Petersburg, Tikhoretskiy Ave., 4
[3]St Petersburg University, 199034, St. Petersburg, Universitetskaya Emb., 7/9

Osteoporosis is a common disease, characterized by decreasing bone density, bone tissue deterioration, and subsequent risk of fractures. It is a polygenic disease with the heritability range 50-80%. Number of genetic studies unveiled some candidate genes involved in the osteoporosis progression. Because it is a complex condition, identified genes sometimes explain only a small portion of the trait variance. Besides, exact genes and pathways responsible for the development of the disease in patients usually remain unclear in each clinical case. Overall, it is still difficult to diagnose, and neither preventive target therapy nor standardized genetic diagnostics array are developed. Thus, the aim of our research is to study polymorphisms associated with the development of osteoporosis in the WGS data. Genomic data of 6 patients and 2 control samples was analyzed.

In total, the number of SNPs per sample was up to 3,600,000. In the GPCRs genes we found 876 mutations presented only in patients samples. They relates to 16 genes, such as TSHR, FSHR, COL2A1. Chosen GPCRs - hormone and other receptors, play an important role in the osteoporosis progression. They regulate osteoblasts and osteoclasts activity, calcium metabolism, and bone mineralization in general. Some identified mutations are directly connected with bone mineral density (BMD). Then, 1148 homozygous SNPs were found in 55 genes from WNT signaling pathway, which is reported to be crucial for osteoporosis development. Affected genes are connected with cell migration and differentiation, ossification, and bone development. Besides, we identified 8 homozygous SNPs in 4 genes (GPR35, WLS, CALCR, ADRB2) that are strongly connected with osteoporosis progression and BMD. Among all the polymorphisms possibly related to the disease obtained from the ClinVar and GWAS databases, 1593 variants in 164 genes were found. Almost half of them are involved in cell morphogenesis, adhesion and motility. Finally, we explore all variants for pathogenic mutations by ACMG guidelines. Only 33 SNPs were pathogenic and met exclusively in patients. Many affected genes are in fact connected with lipid regulation, providing a link between osteoporosis and fat metabolism that can be further clinically checked. There were also such genes as GATA4, CCDC170, and LAMA4, which were shown to be connected with bone mineralization.

To sum up, we identified a number of mutations in genes connected with bone maintenance. Yet results still suggest that the mechanisms leading to osteoporosis in our patients are heterogeneous. We hope to expand the study with a bigger number of samples and in vitro prove some SNPs' pathogenicity. Besides, obtained variants will be used to compose a database on osteoporosis in Russia.

# АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ *BACILLUS PUMILUS* 3-19 С ДЕЛЕТИРОВАННЫМИ ГЕНАМИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ

***Ю. А. Васильева*, *А. И. Гильмутдинова*, *И. В. Дядькина***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул.Кремлевская, 18;
*vasileva891@mail.ru*

Представители рода *Bacillus* эффективно продуцируют различные гидролитические ферменты, в том числе, протеиназы, которые расщепляют высокомолекулярные белковые соединения до коротких пептидов и аминокислот. Данные ферменты широко применяются в пищевой, косметической, фармацевтической и сельскохозяйственной промышленности. Обладают высокой субстратной специфичностью, устойчивостью в обширных диапазонах pH и температуры. Тем не менее многие физиологические процессы такие как спорообразование, конкурентная секреция поверхностных липопептидов и антимикробных метаболитов мешают использовать высокоэффективные штаммы рода *Bacillus*. В связи с этим, мы предположили, что инактивация генов антимикробных пептидов бацилизина и бактериоцина может повысить эффективность клеток *B. pumilus* 3-19. Точная, эффективная и надежная технология CRISPR-Cas9, часто применяется для данных целей.

Для инактивации целевых генов бацилизина и бактериоцина в геноме *B. pumilus* 3-19 были созданы векторные конструкции, содержащие систему CRISPR/Cas9, sgRNA и ДНК-матрицу для гомологичной репарации. Целостность плазмид подтверждали секвенированием. Полученные вектора трансформировали в клетки B. pumilus 3-19 методом электропорации. Наличие плазмид с CRISPR/Cas9 системой подтверждали ПЦР-анализом. Целевую инактивацию генов выполняли на среде с добавлением ксилозы и антибиотика канамицина.

Антимикробную активность определяли методом перпендикулярных штрихов с использованием 18 штаммов микроорганизмов, выделенных из различных источников. Антимикробная активность дикого штамма *B. pumilus* 3-19 была выявлена по отношению к *B. cereus, St. aureus, Pantoea sp*. (3.1, 3.2, 3.6.1), *E. coli* (Y24, K3431, M27(77), M24, B29, B29M. Максимальное антимикробное влияние было оказано на *Pantoea sp*. 3.2, зона ингибирования была равна 0,73 см. Инактивация гена бацилизина привела к потере антимикробной активности по отношению к *B. cereus, St. aureus, P. brenneri* (3.1, 3.2, 3.6.1), *E. coli* M24 и значительно снизилась по отношению к *E. coli* B29. Штамм с инактивированным геном бактериоцина потерял антагонистическую активность к *E. coli* (Y24, K3431, M27(77), M24, B29M) и снизил свое воздействие на *P. brenneri* (3.1, 3.2 и 3.6.1.).

Таким образом, нами были получены мутантные штаммы *B. pumilus* 3-19 с инактивированным антимикробными пептидами, которые снизили или в некоторых случаях утратили свою антагонистическую активность по сравнению с нативным штаммом.

*Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета «Приоритет 2030».*

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛЮЧЕВЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА

***Е. А. Васильчикова*[1, 2], *П. С. Ермакова*[1], *А. В. Кашина*[1, 2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*sciurusub@gmail.com*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Для лечения инсулин-дефицитных состояний на данный момент существует 3 варианта трансплантационных технологий, включая активно применяемую трансплантацию островков Лангерганса (ОЛ). Однако процесс получения островков Лангерганса из поджелудочной железы является сложной, многоступенчатой технологией, имеющей множество факторов, влияющих на качество получаемого трансплантата. Цель работы: определение ключевых факторов, влияющих на эффективность выделения островков Лангерганса из поджелудочных желез крыс и кроликов.

Для выделения ОЛ использовали поджелудочные железы крыс линии Wistar, а также кроликов породы Серый великан. Для ферментативного расщепления добавляли коллагеназу V и инкубировали в орбитальном шейкере при 37°. Очистку островков проводили в 2 этапа. Выделенные ОЛ культивировали в модифицированной культуральной среде DMEM. Для определения количества ОЛ и степени чистоты препарата проводили окрашивание дитизоном. Оценку жизнеспособности проводили с помощью окрашивания набором Life/Dead. Для определения функциональной активности использовали иммуноферментный анализ среды после инкубации ОЛ.

Был определен оптимальный размер фрагментов на этапе фрагментации равен 1-3 мм. Концентрация коллагеназы V должна быть равной 1 мг/см$^3$, а время, необходимое для ферментации не должно превышать 15 минут. Для эффективной очистки необходимо использовать прерывистый градиент плотности растворов Ficoll в диапазоне 1,04-1,09 г/мл. С учетом полученных результатов была подобрана методика получения ОЛ из ПЖ кроликов и крыс. При использовании данного протокола средний выход островков Лангерганса составлял 400±100 ОЛ с одной крысы и 3000±500 ОЛ с одного кролика. Чистота препарата составляла более 80 %. Выживаемость ОЛ после выделения составила более 90 % и сохраняется на уровне выше 80% в течение трех дней. Иммуноферментный анализ продемонстрировал, что дневная секреция инсулина ОЛ составляла более 4 мкЕд/мл в течение трех дней после выделения.

Были подобраны значения ключевых факторов, влияющих на выделение большого количества функционально активных ОЛ из поджелудочных желез крыс и кроликов, включая размер фрагментов на этапе фрагментации, концентрацию коллагеназы, время ферментативного расщепления и плотность растворов на этапе очистки. Был разработан протокол выделения островков Лангерганса из поджелудочной железы крыс и кроликов.

# ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТА ЗОЛОТАРНИКА КАНАДСКОГО НА ЭЛЕКТРОДАХ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ СОЛЯМИ РУТЕНИЯ И ПЛАТИНЫ

***Ю. С. Вахрушева***
Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1; *vakhrusheva8078@gmail.com*

Изучение препаратов растительного происхождения представляет большой интерес. В первую очередь это связано с видимым терапевтическим эффектом и малыми побочными эффектами. Золотарник канадский (*Solidago canadensis*) является одним из широко распространенных видов на территории России, представляющих интерес для получения субстанций, обладающих противовоспалительной и антиоксидантной активностью. Интерес представляет применение электроаналитических методов с использованием новых электродных материалов для оценки окислительно-восстановительных свойств экстракта *S. canadensis*.

Целью работы являлось изучение и сравнение электрохимической активности спиртового экстракта *S. canadensis*, полученного из соцветий и листьев. В работе использовались графитовые электроды, модифицированные солями рутения и платины высокоскоростным лазерным синтезом. Электролитом служил забуференный физиологический раствор (ЗФР). Для измерения фоновых значений в ячейку вносили 70 мкл ЗФР и 30 мкл этилового спирта. При исследовании активности экстрактов *S. canadensis* электролит содержал 70 мкл ЗФР и 30 мкл спиртового экстракта соцветий или листьев S. canadensis. Использовали диапазон потенциалов +600…-700 мВ со скоростью развертки 100 мВ/с. Измеряемым показателем были значения силы тока на рабочем электроде.

Установлено, что модифицированные электроды характеризуются хорошо воспроизводимым электрохимическим поведением в среде ЗФР, формируя анодные ($I_{pa}$ = 38,1 мкА) и катодные ($I_{pc}$ = -78,3 мкА) пики в диапазоне потенциалов +600…-700 мВ. При добавлении в электрохимическую ячейку спиртового экстракта листьев *S. canadensis* на ЦВА наблюдается снижение пиков ($\Delta I_{pa}$ = 9,6 мкА, $\Delta I_{pc}$ = 29,7 мкА), а также сдвиг потенциалов пиков в положительную область ($\Delta E$ = 30,9 мВ). Экстракт соцветий вызывает более выраженные изменения: $\Delta I_{pa}$ = 20,2 мкА, $\Delta I_{pc}$ = 47,9 мкА. Данные литературы и анализ полученных вольтамперных кривых позволяет предполагать принадлежность веществ в составе экстракта к соединениям фенольной природы, которые обладают антиоксидантными свойствами и способны к электрохимическим превращениям.

Таким образом, спиртовой экстракт *S. canadensis* обладает окислительно-восстановительными свойствами. Компоненты экстракта снижают значения токов при его добавлении в фоновый электролит (ЗФР). Экстракт соцветий является более электрохимически активным по сравнению с экстрактом листьев. Полученные результаты могут быть применены в тестировании фитопрепаратов *S. canadensis*.

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАССОРТАНТНЫХ РОТАВИРУСОВ ГЕНОТИПА G2P[4] НА ОСНОВЕ ВСЕХ СЕГМЕНТОВ ГЕНОМА

***Е. И. Великжанина*[1, 2], *Т. А. Сашина*[2], *О. В. Морозова*[2], *А. Ю. Кашников*[2], *Н. В. Епифанова*[2], *Н. А. Новикова*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *www.e_velikzhanina@mail.ru*

[2]Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Ротавирус А (РВА, род *Rotavirus*, сем. Reoviridae) является ведущей причиной острого гастроэнтерита у детей младшего возраста во всем мире. В основном, РВА человека являются представителями двух геногрупп: Wa-подобной (G1/G3/G4/G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1) и DS-1-подобной (G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2), и имеют, соответственно, длинный и короткий профили миграции сегментов генома в ПААГ. Благодаря сегментированному геному, ротавирусы способны к реассортации, что позволяет им поддерживать разнообразие в популяции. Однако реассортантные вирусы нельзя выявить рутинными методами исследования. Цель работы: поиск и молекулярно-генетическая характеристика реассортантных ротавирусов в Нижнем Новгороде на основе всех сегментов генома.

В работе использовали образцы стула детей, госпитализированных с диагнозом ОКИ в детский инфекционный стационар Нижнего Новгорода в период 2021-2022 гг. G/P-генотипирование выполняли методом мультиплексной ПЦР. Нуклеотидные последовательности РВА определяли на приборе Нанофор 05 (Синтол, Россия). Для каждого из 11 генов отобранных штаммов был секвенирован фрагмент кДНК длиной 570-850 п.н. С помощью BLAST-анализа каждого геномного сегмента выполняли поиск родственных последовательностей. Филогенетический анализ проводили в программе MEGA X.

Исследовано 780 РВ-содержащих образцов. Методом ПЦР в 556 образцах (71,3%) определён G[P]-генотип ротавируса. Преобладали штаммы генотипа G3P[8] (52,7%). Методом РНК-ПААГ было установлено, что 2 штамма генотипа G2P[4] имели нехарактерный для DS-1-подобной геногруппы, длинный, профиль миграции сегментов. Определены их полные генотипы: G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A3-N2-T3-E2-H3 и G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A3-N2-T3-E3-H2. На основе девяти (VP1-VP3, VP6, NSP1-NSP5) и восьми (VP1-VP3, VP6, NSP1-NSP4) генов, соответственно, они имели филогенетическое родство с нижегородскими ротавирусами с генотипами G3P[9] и G6P[9] (2016-2018 гг.), подобными РВ кошек и собак, а также со штаммом РВ кошки из Италии (BA222). Сходство нуклеотидных последовательностей составило 98,7-99,8%. Остальные гены (VP4, VP7, NSP5) принадлежали DS-1-подобной геногруппе и имели родство с ротавирусами генотипа G2P[4], выявленными в Нижнем Новгороде в 2019 году.

Таким образом, наличие смешанного набора генов свидетельствует о реассортантном происхождении исследованных штаммов.

# ГРАФИЧЕСКИЕ АНИМИРОВАННЫЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ В АНАТОМИИ ЧЕЛОВЕКА

***И. И. Веретенов*[1], *Н. В. Сгибнева*[1], *И. Г. Стельникова*[2], *А. В. Заблоцкий*[2]**
[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*veretenoff2015@yandex.ru*
[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Среди студентов и преподавателей большую популярность имеют компьютерные анатомические изображения и видео. Они позволяют повысить эффективность обучения.

Созданные нами GIF изображения проводящих путей ЦНС человека позволяют повысить наглядность и скорость усвоения учебного материала.

Источником для работы послужила подборка графических изображений проводящих путей ЦНС, которые были преобразованы в анимации.

В общедоступных материалах имеются схемы проводящих путей, но в них есть ошибки или неточности. Таким образом, при их рассмотрении необходимы превосходные знания о структурах, через которые проходит нервный импульс.

Для улучшения восприятия человеком данной темы были разработаны специальные GIF изображения в программе Adobe After Effects. Схемы проводящих путей вносятся в программу в формате jpg либо png. Далее с помощью инструментов "перо" моделировалась траектория импульса. При этом использовалась коррекция исходных изображений в программе Adobe Photoshop, что позволило отсечь излишний материал от схемы. Скорость движения подбиралась таким образом, чтобы при просмотре человек мог легко воспринимать информацию о структурах, через которые идет раздражение, а также всплывающий текст.

В результате нами были созданы анимационные изображения проводящих путей, которые позволяют сформировать у обучаемых четкое представление о данных анатомических образованиях. Это позволяет использовать его для учебного процесса в высших учебных медицинских учреждениях.

# ПРИБРЕЖНО-ВОДНАЯ РАСТИТЕЛЬНОСТЬ ПРУДОВ МАЛОЙ РЕКИ ПАРАШИ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ВОДООХРАННЫХ ЗОН

***Е. Р. Вершинина*, *И. С. Макеев***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*vershinina-lenochka@inbox.ru*

Объектом исследования является прудовая система реки Параши - малого водотока (притока р. Волки II порядка) левобережной части г. Н.Новгорода.

Обследованы берега 2 прудовых расширений: на участке жилого микрорайона по ул. Федосеенко и кольцевого озера Сормовского парка. Первое не имеет оборудованной рекреационной зоны, но активно используется местным населением для рыбалки и стихийного отдыха. Второе имеет спланированные берега, оборудованный пляж и прокат плавсредств.

Цель работы: оценить и сравнить экологическое состояние водоохранных зон прудовой системы малого водотока урбанизированной территории на основе показателей видового состава и видовой структуры прибрежно-водной травянистой растительности.

Материалом для работы послужили описания пробных геоботанических площадок 10 м$^2$ береговой полосы шириной до 5 м, собранные в июне-июле 2022 года. Пруд по ул.Федосеенко отличается сравнительно высоким видовым богатством (94 вида с преобладанием световых гигрофитов). По проективному покрытию доминируют *Phragmites australis, Equisetum silvaticum, Glyceria maxima, Scirpus sylvaticus, Carex acuta*. По проективному покрытию на Сормовском озере доминируют *Phragmites australis, Scirpus sylvaticus, Carex acuta, Glyceria maxima*.

Показатели α-разнообразия, оцененные индексами Шеннона и Симпсона, показывают наибольшие значения на северо-западном берегу прудового участка №1 и на левом берегу прудового расширения реки Параши.

Дендрограмма видовой структуры показывает в пруду по ул. Федосеенко в основном градуальное различие биотопов. Четко выделяются два кластера: геоботанические площадки 7.5-6.3 и 4.1-4.2. Существенное отличие по видовой структуре имеют биотопы № 4.6, 4.7, 2.2, 6.6, 5.4 и 7.3. На берегах оз. Сормовского выделено 5 кластеров: 10.2-10.4, 9.10-9.11, 9.7-9.8, 8.6-9.9, 8.1-8.2. Остальные биотопы имеют существенные отличия и либо выпадают, либо группируются при относительно низком уровне сходства.

В процессе статистического анализа были выявлены различия берегов водоемов по индексу Шеннона (критерий Манна-Уитни w = 882, p-value = 0,485).

Оценка таких экологических факторов как увлажнение почвы, кислотность почвы и богатство почвы азотом на прудовых расширениях производилась методом фитоиндикации при помощи экологических шкал Д.Н. Цыганова и показывает различия по берегам оз. Сормовского.

# КЛАССИФИКАЦИЯ ПОДТИПОВ ГЛИОМ НА ОСНОВЕ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ

***О. С. Вершинина*[1, 2], *М. В. Ведунова*[1], *М. В. Иванченко*[1]**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*olya.olya-ver@yandex.ru*
[2]Институт системного программирования им. В.П. Иванникова РАН, 109004, Москва, ул. Александра Солженицына, 25

Глиомы являются распространенным типом первичной опухоли головного мозга у человека и составляют более половины опухолей центральной нервной системы. По данным ВОЗ глиомы делятся на четыре степени. Степень I соответствует доброкачественным опухолям. Степени II и III – это глиомы более низкой степени злокачественности (Lower Grade Glioma, LLG), такие как астроцитомы, олигодендроглиомы и смешанные олигоастроцитомы. Степень IV - агрессивные злокачественные опухоли, а именно глиобластомы. Пациенты с глиомами II и III степени имеют более благоприятный прогноз, в то время как даже при хирургической резекции и лучевой терапии, исход для пациентов с глиобластомой остается плохим.

Классификация подтипов глиом важна для выбора дальнейшей стратегии лечения. Однако использование только традиционных методов клинического тестирования, включая магнитно-резонансную томографию, не всегда бывает достаточным. Поэтому важно разрабатывать методы диагностики глиом на основе других типов данных, например, транскриптомных данных (данных экспрессии генов). В данном исследовании мы разработали объяснимую модель классификации подтипов глиом более низкой степени злокачественности (астроцитома и олигодендроглиома) на основе транскриптомных данных и определили важнейшие биомаркеры, влияющие на классификацию.

В качестве обучающего набора данных были использованы данные РНК-секвенирования TCGA-LGG, скачанные с портала TCGA (The Cancer Genome Atlas). Тестовые наборы данных mRNAseq_693 и mRNAseq_325 были взяты с портала CGGA (Chinese Glioma Genome Atlas). Построение оптимальной модели классификации заключалось в тестировании различных способов отбора признаков в сочетании с различными алгоритмами классификации, основанными на деревьях решений.

В результате мы получили модель, состоящую всего из шести генов (TRIM67, XKR7, ASAP3, SCP2, SRSF4, KCNK3) и имеющую среднюю точность предсказания, равную 89.5%. Полученные шесть биомаркеров, представленных в модели, тесно связанны с глиомой. Например, известно, что TRIM67 – это онкоген в олигодендроглиоме, повышенная регуляция которого приводит к повышенной подвижности клеток, росту опухоли и снижению выживаемости. Так же важной особенностью модели является то, что в нее была добавлена объяснимость, позволяющая интерпретировать сделанные моделью предсказания как глобально на уровне всей выборки, так и локально на уровне конкретных пациентов.

# РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СТРЕКАТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК В РЕДУЦИРОВАННЫХ И НЕРЕДУЦИРОВАННЫХ ГОНОФОРАХ ГИДРОИДА *SARSIA LOVENII*

***А. А. Ветрова*[1], *А. А. Прудковский*[2], *С. В. Кремнёв*[1, 2]**

[1]Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26; *lalavetrova@gmail.com*

[2]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

Представители класса Hydrozoa типа Cnidaria известны сложностью своих жизненных циклов. У многих видов жизненный цикл включает стадию донного полипа, который за счёт бесполого размножения образует размножающиеся половым путём гонофоры. У части видов гонофоры представляют собой свободноплавающих медуз. Однако среди гидроидов широко распространена тенденция к редукции медузного поколения. Редукция гонофоров у гидроидов представлена в разной степени в зависимости от вида и варьируется от медузоидов, которые сохраняют часть черт, присущих медузам, до полностью лишённых этих черт споросаков. В ходе эволюции гидроидов редукция гонофоров происходила по меньшей мере 70 раз, но механизмы этого феномена не ясны до сих пор.

Объектом для прояснения этого вопроса может послужить беломорский гидроид *Sarsia lovenii*. У *S. lovenii* существуют два гаплотипа, отличающиеся особенностями жизненного цикла. Полипы одного из гаплотипов образуют свободно плавающие медузы, тогда как другой формирует прикреплённые медузоиды, утрачивающие многие черты строения свободноплавающей медузы, такие как светочувствительные глазки и щупальца.

Мы решили сравнить, как в гонофорах двух типов происходит формирование стрекательных клеток (нематоцитов). Медузы используют нематоциты для защиты и нападения. Поскольку медузоиды обладают более простым поведением, мы предположили, что по сравнению с медузами у них будет иное распределение нематоцитов. Для этого мы сравнили распределение пролиферирующих клеток и нематоцитов, а также провели гибридизацию *in situ* на гены-маркёры нематоцитов на разных стадиях дифференцировки.

Оказалось, что по распределению нематоцитов медузоиды похожи на ещё не отделившиеся от полипа почки медуз. И у тех, и у других мы обнаружили нематоциты и экспрессию SlNowa, гена-маркёра их поздней дифференцировки в колоколе. У медуз наличие нематоцитов в колоколе является признаком незрелости. Полученные данные являются ещё одним свидетельством в пользу ранее высказанного предположения, что медузоиды обладают не редуцированными, а ювенильными морфологическими признаками. Таким образом, медузоиды *S. lovenii*, достигшие половой зрелости, но сохранившие ювенильные соматические черты, отвечают определению неотении. Сохранение нематоцитов в колоколе может служить адаптацией медузоида к прикреплённому образу жизни. С их помощью медузоид, неспособный уплыть от опасности, может защищаться от хищников.

*Исследование/проект выполнен при поддержке гранта РНФ № 21-74-00129.*

# ПЕРВИЧНАЯ ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ОБРАБОТКА СПОР ИСТИННЫХ ТРЮФЕЛЕВЫХ ГРИБОВ *TUBER SP.* БРЮХОНОГИМИ МОЛЛЮСКАМИ

***А. А. Власова*, Е. В. Малыгина, Н. А. Имидоева, А. Ю. Белышенко, Е. А. Мишарина, Д. В. Аксёнов-Грибанов**

Иркутский государственный университет, 664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 1; *anfi98@bk.ru*

Трюфели относятся к гипогенным эктомикоризным грибам, а их распространение во многом зависит от активности животных-микофагов. После поедания микофагами плодовых тел трюфелей, аски (сумки) со спорами трюфелей проходят через пищеварительный тракт, в котором происходит ферментативное воздействие на аски. После ферментации аски разрушаются и свободные одиночные споры поступают в природу, где при благоприятных условиях прорастают и формируют микоризу. В конечном итоге это приводит к формированию плодовых тел гастрономически ценных грибов.

Известно, что самой изученной группой млекопитающих животных-микофагов являются грызуны. Помимо грызунов, большую роль в распространении спор грибов оказывают дикие кабаны. Показано, что дикие кабаны распространяют споры трюфелей на большие расстояния. Микофагия у беспозвоночных представлена слабо изученной областью и обнаружена преимущественно у членистоногих и безраковинных моллюсков. Так, высказано предположение, что последние могут играть аналогичную роль в биологическом цикле трюфелей. Однако, в отличие от кабанов, слизни распространяют споры на короткие расстояния. Вопросы микофагии у раковинных моллюсков практически не описаны в литературе.

Целью нашего исследования было изучить морфологические изменения асков трюфеля рода *Tuber* после их прохождения через кишечник моллюсков *Achatina sp.*

Для проведения экспериментов моллюсков рода *Achatina* кормили образцами трюфелевых грибов *Tuber sp*. Последние были привезены из Краснодарского края. Анализ состояния асков трюфелевых грибов оценивали микроскопически, для чего собирали фекалии моллюсков. Изменения в морфологии спор и асков регистрировали с помощью светового микроскопа Микромед 2 (вар. 3-20).

Выявлено, что споры, не подвергшиеся ферментативной обработке в желудочно – кишечном тракте моллюсков, сгруппированы по 2-6 шт в асках. Размер сумки со спорами составляет около 0,01 мм. В свою очередь, в фекалиях моллюсков обнаружены одиночные споры. Показано, что под воздействием ферментов происходит разрушение асков и высвобождение спор в пищеварительном тракте брюхоногих моллюсков.

Таким образом, в ходе исследования обнаружены изменения состояния спор после ферментации в пищеварительном тракте моллюсков рода *Achatina*. Так, потребление брюхоногими моллюсками спор трюфелевых грибов может привести к оптимизации работ по подготовке посевного материала мицелия трюфелевых грибов.

*Исследование проведено при финансовой поддержке проекта РНФ 22-76-10036.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРООБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АМФОТЕРИЦИНА Б

***Е. В. Водопьянова*[1], *А. И. Малыхина*[1], *С. С. Ефимова*[1], *О. С. Остроумова*[1], *О. А. Омельчук*[2], *А. Н. Тевяшова*[2]**

[1]Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Тихорецкий просп., 4;
*ket08_02@mail.ru*
[2]НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, 119021, Москва, ул. Б. Пироговская, 11

Полиеновые макролидные антибиотики (ПМА) были открыты в 1950-х годах и сразу зарекомендовали себя как вещества с высокой антимикотической активностью, что позволило использовать их в медицине. Противогрибковое действие полиеновых макролидов обусловлено их способностью связываться со стеринами, в том числе эргостерином (Эрг) – неотъемлемым компонентом клеточной мембраны грибков. Несколько комплексов ПМА-Эрг формируют в мембране пору, нарушая метаболизм клетки, что приводит к её гибели. Несмотря на высокую противогрибковую активность, значительным недостатком использования ПМА является высокий риск развития у пациентов множественных побочных эффектов – нефропатии, анемии, тромбофлебита и др., обусловленных плохой растворимостью ПМА в воде и затруднённым выводом их из организма, а также способностью ПМА вместо Эрг в мембранах грибковых клеток связывать холестерином (Хол) в мембранах животных клеток, также формируя в них поры. Поэтому актуальной является разработка полусинтетических ПМА с более высокой эффективностью действия, чем родительская молекула ПМА, но с меньшим токсическим эффектом.

В работе исследована порообразующая способность полусинтетических соединений – производных полиенового макролидного антибиотика амфотерицина Б (АмБ). Производные соединения были получены путём присоединения к аминогруппе микозамина в составе молекулы АмБ одной (соединение №1) и двух (соединение №2) молекул 2-(этиламино)-этанола.

Для решения поставленных задач был применён электрофизиологический метод регистрации токов, протекающих через плоские липидные мембраны, сформированные по методу Монтала и Мюллера из 1,2-дифитаноил-sn-глицеро-3-фосфохолина и Хол в молярном соотношении 2:1 и омываемые 2 М раствором KCl (pH 7.4).

Выявлено, что двухстороннее введение в мембраноомывающий раствор соединений №1 и №2 приводит к образованию одиночных каналов в холестерин-содержащих бислоях при концентрациях в 5-6 раз меньше, чем в случае АмБ. Установлено, что при трансмембранном напряжении +200 мВ проводимость ионных каналов, образованных АмБ, соединениями №1 и №2, составляет 11.0 ± 1.9 пСм, 6.4 ± 1.5 пСм и 9.1 ± 1.4 пСм, соответственно. Сходство формы вольт-амперных кривых каналов, образованных АмБ или его производными, указывает на близость геометрии образуемых ими пор. Также было установлено, что время нахождения в открытом состоянии каналов, образованных обоими полусинтетическими аналогами, в 2 раза меньше (16 ± 1 мс), чем у АмБ-каналов (28 ± 2 мс). В результате химической модификации молекула АмБ теряет цвиттер-ионные свойства и приобретает положительный заряд, что приводит к взаимному отталкиванию и, вероятно, обеспечивает дестабилизацию полиен-холестериновых олигомеров, формирующих трансмембранные поры.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-74-20102 «Изучение молекулярных основ механизма действия противогрибковых антибиотиков макролидов».*

# ПОИСК ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К РЖАВЧИНЕ (*PUCCINIA STRIIFORMIS*) У СОРТОВ ПШЕНИЦЫ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

***К. С. Волков***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*kir-ill_volkov@mail.ru*

Заболевание желтая ржавчина, вызываемое грибами *Puccinia striiformis*, является одной из причин потери большой доли урожая зерновых культур. К задачам селекции относится выведение сортов, устойчивых к подобным поражениям. Посредством молекулярных маркеров можно идентифицировать растения, имеющие один или более генов устойчивости, выявлять генотипы с комбинациями таких генов для последующей направленной селекции. Целью данной работы было выявление маркеров устойчивости к желтой ржавчине у сортов мягкой яровой пшеницы РТ. В работе были использованы 25 сортов мягкой яровой пшеницы *Triticum aestivum*, предоставленные ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН. ДНК выделяли из 5-ти дневных проростков пшеницы двукратным CTAB, далее проводили ПЦР-анализ для идентификации генов Yr5 (S23M41), Yr10 (Xpsp3000) и Yr15 (Xgwm413). Согласно полученным данным наличие гена Yr5 обнаружено у 7 (28%) сортов, Yr10 выявлен у 12 (48%), а Yr15 – у 5 (20%). У сортов Надира, Ситара и Хазинэ выявлена комбинация двух генов Yr5 и Yr10, что составляет 12% среди всех исследуемых сортов. Комбинация генов Yr5 и Yr15 выявлена у одного сорта Сакара. Наличие сразу всех трех генов выявлено у двух сортов — Йолдыз и Казанская юбилейная, что составляет 8%. Согласно данным литературы Yr5 является геном устойчивости проростков, в связи с чем его предпочтительно использовать в сочетании с другими генами устойчивости, которые проявляют себя в основном у взрослых растений.

Таким образом, наиболее перспективными из исследованных сортов РТ в отношении устойчивости к желтой ржавчине можно назвать сорта Йолдыз и Казанская юбилейная.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩИХ САНИТАРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕКИ ИЛЕТЬ

***Д. А. Волкова***
Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*dashulyavolkova23@yandex.ru*

Нашу планету зачастую называют голубой планетой, так как большую часть ее поверхности занимает вода. Но многие люди даже не задумываются, какую малейшую часть из этого богатства составляют пресные воды. В ходе своей деятельности люди оказывают негативное влияние на природные водные объекты. В первую очередь огромный урон наносится рекам, ведь именно в них, чаще всего, производится сброс сточных вод. С каждым годом антропогенная нагрузка на речные экосистемы возрастает.

Объектом данного исследования являются природные воды реки Илеть. Она протекает по территории Республики Марий Эл, берет свое начало в Мари-Турекском районе, а впадает в Куйбышевское водохранилище. Река Илеть широко используется в рекреационных целях. Целью данной работы является исследование общих санитарных показателей воды реки Илеть. В воды исследуемой реки совершается сброс сточных вод с очистных сооружений, расположенных вблизи поселка Красногорский. Для проведения данного исследования были отобраны пробы в следующих точках: на 500 м выше места сброса, в месте сброса и ниже на 500 м от места сброса. При отборе проб были учтены все требования ГОСТ 31942-2012. В ходе исследования проводились анализы следующих общесанитарных показателей: водородный показатель (pH) – потенциометрическим методом, взвешенные вещества – гравиметрическим методом, биологическое потребление кислорода за 5 суток (БПК5) и растворенный кислород – йодометрическим методом, жесткость общая – титриметрическим методом. Проводилась статистическая обработка данных: однофакторный дисперсионный анализ для установления зависимости значений от места отбора проб и множественное сравнение.

Ни в одной из точек наблюдения величина водородного показателя не превышает гигиенического норматива. Содержание взвешенных веществ во всех отобранных пробах не превышают фонового значения. Во всех трех точках значения БПК5 превышают значения гигиенического норматива, что указывает на высокое содержание органических соединений. Максимальное превышение в 1,2 раза обнаружено в месте сброса. Значения растворенного кислорода во всех исследуемых точках находятся в пределах гигиенического норматива. Вода в реке Илеть обладает большой жесткостью, что связано с естественными факторами, преимущественно с высоким уровнем содержания кальция, магния и сульфатов. Вода в реке Илеть в месте выше сброса характеризуется как жесткая, а в местах сброса и ниже сброса – как очень жесткая.

Таким образом, было выявлено превышение гигиенических нормативов во всех точках по жесткости и БПК5. Наибольшее превышение было в месте сброса.

# РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕЛЕВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА *IN VITRO*

***М. В. Волкова*[1, 2]**

[1]Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Московской обл., Институтский пер., 9; *biotech.volkova@list.ru*

[2]Химическая компания «Орион»

Эффективная первая помощь в остановке кровопотери может выиграть время для спасения жизни, а также снизить смертность и инвалидность раненных. На сегодняшний день разрабатывается большое количество местных гемостатических изделий (ГИ) на основе природных и синтетических материалов в различных формах: порошок, пена и др. В связи с этим возникает необходимость разработки методик изучения ГИ в лабораторных условиях. Гемостатическая активность хитозана и его производных обусловлена его катионной природой, позволяющей взаимодействовать с отрицательно заряженной мембраной форменных элементов крови. Также полимер способен адсорбировать фибриноген и белки плазмы, усиливая агрегацию тромбоцитов. Целью исследования являлся подбор и апробация методик для местных мукоадгезивных ГИ на основе соли хитозана в форме порошка.

В качестве модельных ГИ были использованы несколько коммерческих медицинских изделий. Для апробации методик скрининговых исследований *in vitro* были выбраны следующие показатели: скорость адсорбции эритроцитов и общая емкость. Методика оценки адсорбции эритроцитов включает в себя активацию крови хлоридом кальция, инкубацию с гемостатическим средством, лизирование эритроцитов и спектрофотометрическое измерение. Стоит отметить, что при комнатной температуре процесс свертывания крови занимает от 5 до 10 минут. Короткий промежуток времени не позволяет оценить различия ГИ, поэтому дополнительно кровь разбавляют физиологическим раствором в 3 раза (при этом в разбавлении учитывается объем хлорида кальция). Инкубацию с гемостатическим средством проводят при 37°С в течение 3 и 10 минут, после чего образцы аккуратно разбавляют в 7 раз водой для разрушения не адсорбированных эритроцитов. Высвободившийся гемоглобин определяют спектрофотометрически при длине волны 540 нм. Расчет проводится относительно крови без ГИ. Определение емкости гемостатических изделий осуществляют по аналогичной методике, но с использованием неразбавленной крови в избытке.

Таким образом, были разработаны методики с использованием крови для оценки гемостатических свойств медицинского изделия. Установлено, что ГИ, адсорбирующее 95,00±1,00 % и более эритроцитов за 3 минуты, а также имеющее емкость не менее 14 мл крови/г образца, обладает гемостатической эффективностью сопоставимой с результатами экспериментов *in vivo*. За счет использования навески менее 100 мг данная методика позволяет дополнительно оценить однородность ГИ. Высокий показатель абсорбции эритроцитов в совокупности с отклонением менее 1% обеспечивает высокую воспроизводимость результатов, получаемых в экспериментах на животных. Также разработанная методика с небольшими модификациями позволяет оценить гемостатическую активность ГИ в других формах.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММ, ПРЕДСКАЗЫВАЮЩИХ ПОЛОЖЕНИЕ НАТИВНО-РАЗВЕРНУТЫХ УЧАСТКОВ БЕЛКОВ, ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ ЦИРКУЛЯРНЫХ ПЕРМУТАНТОВ АПИКАЛЬНОГО ДОМЕНА GROEL

***Д. Е. Воробьёва*, М. А. Мажорина, Т. Н. Мельник, Б. С. Мельник**
Институт белка РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 4;
*daria.vorob404@gmail.com*

Циркулярные пермутанты (ЦП) используют для изучения процесса сворачивания глобулярных белков, манипулирования каркасом молекулы и улучшения каталитических, афинных свойств белков, создания биосенсоров. Основой создания нового ЦП является ковалентное связывание N- и C-концов белка линкером и внесение разрыва в любую другую пептидную единицу исследуемой молекулы. Самым сложным при проектировании ЦП является выбор позиции разрыва полипептидной цепи, то есть положения новых N- и C-концов. В большинстве работ по исследованию ЦП место разрыва выбирают интуитивно, однако можно прибегнуть к рационализации подбора мест новых концов белка.

Мы выдвинули идею – спрогнозировать стабильность ЦП апикального домена GroEL из *Escherichia coli*, используя программное обеспечение, нацеленное на анализ нативно-развёрнутых частей молекул. Мы использовали программу PONDR-FIT, результаты которой можно интерпретировать, для глобулярных белков, как вероятности дестабилизации разных участков белков. Такой подход позволил спроектировать и изучить шесть циркулярных пермутантов с разными предполагаемыми уровнями стабильности.

Белки выделили, очистили и исследовали методом кругового дихроизма при разных температурах и в присутствии разных концентраций денатурантов. Исследованные циркулярные пермутанты апикального домена GroEL отличаются по стабильности, что видно, например, по температуре плавления этих белков. Экспериментально полученные данные и предсказанная стабильность циркулярных пермутантов хорошо коррелируют. Это позволяет предположить, что разработанную нами методику оценки относительной стабильности циркулярных пермутантов с помощью программы PONDR-FIT можно применять для создания циркулярных пермутантов большинства глобулярных белков.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-14-00268).*

# ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ РАСТЕНИЙ *VICIA CRACCA*, ПРОИЗРАСТАВШИХ НА ТЕРРИТОРИИ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

***В. С. Воронежская*[1], *М. С. Подлуцкий*[1], *Е. А. Казакова*[1], *Е. М Шестерикова*[1], *П. Ю. Волкова*[2]**

[1]Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Обнинск, Киевское шоссе, 1/1; *vika.vv14@gmail.com*

[2]Независимый исследователь, Гел, Бельгия

На территориях зоны отчуждения Чернобыльской АЭС произрастают популяции горошка мышиного (*Vicia cracca*). Это многолетнее травянистое растение семейства Бобовые, которое используется для залужения неудобий и бросовых земель, а также для сенокосно-пастбищного использования.

Образцы листьев были отобраны на двух слабозагрязненных (контрольных) участках: Бабчин и Ломыш, и на двух участках с повышенным радиационным фоном: Кулажин и Масаны. На каждом участке отбирали три образца листовой ткани *V. cracca*. Тотальную РНК выделили из 100 мг каждого образца и отсеквенировали на приборе Illumina NovaSeq 6000 (США), парными прочтениями по 150 пар оснований (п.о.). Для триммированных прочтений была получена сборка транскриптома *de novo*, состоящая из 1 217 358 контигов, собранных в кластеры из 652 040 «генов». Поиск белковых (blastp) и транслирующих (blastx) мотивов осуществлялся на последовательностях, полученных из базы данных Swiss-Prot. В результате было определено 40 685 генов.

Для количественного определения генной экспрессии использовался алгоритм квантификации kallisto v.0.46. Полученные результаты анализировали пакетом статистики R DESeq2. Сравнение производили между опытными и контрольными участками, а также между двумя контрольными участками (Бабчин-Ломыш) для оценки гетерогенности. В результате были определены значимые гены, экспрессия которых однонаправленно изменялась относительно обоих контрольных участков и не различалась между двумя контролями (Бабчин и Ломыш). Всего было отобрано 457 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) с пониженной и 371 ген с повышенной регуляцией. Инструментом для аннотаций DAVID Bioinformatics были определены термины генной онтологии для генов с повышенной и пониженной регуляцией. Для точечной оценки было отобрано по 25 генов с наиболее высокой и наиболее низкой экспрессией по сравнению с контролем.

Среди ДЭГ с пониженной регуляцией были отмечены гены, участвующие в процессах фотосинтеза и биосинтеза хлорофилла (ISPE_SOLLC, PUR5_VIGUN, PGL1B_ARATH, FTSI1_ARATH, CHLM_ARATH, PGKH_WHEAT). Стратегия редукции хлорофилла может быть направлена на снижение образования эндогенных АФК во время работы электрон-транспортной цепи фотосинтеза.

Среди ДЭГ с повышенной регуляции были отобраны гомологи генов, участвующих в процессах апоптоза, антиоксидантной активности, репарации ДНК, индукции гистонов. Были рассмотрены эффекты некоторых из этих генов: PALY_MEDSA, отвечающий за синтез фенольных соединений, пероксидаз PERE5_ARMRU и PER72_ARATH, гена репарации TOP3A_ARATH, гистона H4 H4_SOYBN и трех генов апоптоза (CEP1_ARATH, ASPG_LUPAL и C3H54_ORYSJ).

В докладе будет представлена оценка полученных результатов с точки зрения формирования возможных адаптаций травянистых растений к хроническому ионизирующему облучению.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-74-10004).*

# ИНТЕНСИВНОСТЬ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПЛАЗМЫ КРОВИ И АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЫБЬЕГО ЖИРА НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ У КРЫС

***Д. С. Воронина*, *М. А. Доронина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*voronina.darya-voronina-2001@yandex.ru*

В нормальных физиологических условиях в организме человека существует баланс между окислителями, которые возникают в результате неполного восстановления кислорода, так называемые активные формы кислорода (АФК) и антиоксидантной системой. Но если уровень АФК превышает возможности антиоксидантной системы, то возникает окислительный стресс, который в свою очередь оказывает повреждающее действие на биомолекулы и запускает различные патологические процессы. При чрезмерной активации свободно радикальных процессов, в особенности перекисного окисления липидов (ПОЛ) наблюдается снижение работоспособности и развивается утомление, что характерно для интенсивной физической нагрузки. В связи с этим на сегодняшний день идет поиск средств повышающих работоспособность и снижающих процессы ПОЛ при повышенных физических нагрузках. Цель работы: исследовать действие рыбьего жира на окислительные процессы в плазме крови и оценить концентрацию АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах при физической нагрузке организма животных.

Объектом исследования служили лабораторные белые крысы линии Wistar массой 300-400 гр. Животным опытной группы вводили peros рыбий жир, контрольной группе вводился физраствор. Проведение физической нагрузки «до отказа» осуществилось 4 раза, между нагрузочными тестами животных кормили рыбьем жиром. Нагрузка осуществляется в соответствии со стандартной методикой плавания животных с грузом 10% от массы тела в воде термокомфортной температуры (28°С). Интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК), триеновыхконъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ). Концентрацию АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах определяли по уровню неорганического фосфата.

Полученные данные свидетельствуют о том, что содержание ДК, ТК и ОШ постепенно снижалось при употреблении РЖ по сравнению с контрольной группой животных. Изменение концентрации АТФ и 2,3-ДФГ носило динамичный характер с увеличением показателей к последнему нагрузочному тесту. Полученные результаты свидетельствуют, что использование РЖ снижало процессы липопероксидации плазмы крови и увеличивало концентрацию органических фосфатов в эритроцитах, наиболее выраженно к концу эксперимента. Вероятно, содержащиеся в рыбьем жире полиненасыщенные жирные кислоты оказывают стабилизирующее действие на липиды, что, в свою очередь, отражается на состоянии клеток.

# РАЗРАБОТКА СИНБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ КОРМОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ НА ОСНОВЕ НОВЫХ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ

***Е. А. Гаврилова*, О. С. Карасева, Д. Р. Яруллина, Я. М. Наит, Е. А. Анисимова, А. Р. Каюмов**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *Alalila@yandex.ru*

Производство пищевых добавок с добавлением пробиотических препаратов и агроминералов является перспективным направлением создания новых кормов для сельскохозяйственных животных и птицы. Их применение способствует повышению резистентности животных к неблагоприятным факторам внешней среды, улучшению иммунного статуса организма, стимуляции роста и развития молодняка, повышению качества получаемой продукции. В роли пробиотических микроорганизмов могут выступать лактобактерии. В работе использовали пять штаммов, выделенных из растительного сырья и кишечника человека: *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, *Lactiplantibacillus plantarum* AG16, *Limosilactobacillus fermentum* HFD1, *Ligilactobacillus salivarius* LS 4-4, *Lactiplantibacillus plantarum* FCa3L.

Целью работы было охарактеризовать новые штаммы лактобацилл с точки зрения перспективы их использования в качестве пробиотических добавок для сельскохозяйственных кормов.

Установили биосовместимость всех штаммов лактобацилл с помощью совместного культивирования на агаризированной среде, что доказывает возможность их использования в составе композиции в синбиотическом препарате.

Также оценили жизнеспособность *L. plantarum* AG10, *L. plantarum* AG16 и *L. fermentum* HFD1, выращенных в молочной сыворотке после иммобилизации на агроминералах (сапропель, бентонит и цеолит) при инкубации при 4, 20 и 37 °C на 1, 7 и 14 сутки. Установили, что при иммобилизации на цеолите все штаммы показывают заметное снижение жизнеспособности на 14 сутки при разных температурах. Наивысшую жизнеспособность после иммобилизации и при хранении показывает штамм *L. plantarum* AG10. Провели скрининг антагонистически активных лактобацилл против различных условно-патогенных микроорганизмов после иммобилизации на агроминералах. Выявили сохранение антимикробных свойств на всех носителях.

Таким образом, новые штаммы лактобацилл представляет интерес для их использования в сельскохозяйственной промышленности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ 22-16-00040.*

# ИЗУЧЕНИЕ БИОМОВ АКТИВНЫХ ИЛОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА, ФОРМИРУЮЩИХСЯ НА СТОКАХ ПРОИЗВОДСТВ ОРГАНИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

***Р. Р. Гайнетдинова*, *Е. С. Балымова*, *А. Р. Новикова***
Казанский национальный исследовательский технологический университет, 420015, Казань, ул. К. Маркса, 68; *g-roza_@mail.ru*

Проблема очистки сточных вод при современных масштабах производства является сложной научно-технической задачей, так как сточные воды содержат множество примесей, подлежащих обезвреживанию. Важное место среди существующих методов очистки занимает биологическая очистка, широко использующаяся при обработке промышленных и бытовых стоков. Факторами формирования специфического биоценоза илов очистных сооружений являются качественный состав поступающей воды и величина нагрузки на активный ил. Поэтому работы, направленные на изучение влияния основных экофакторов на состояние биоагента, осуществляющего очистку, следует отнести к приоритетным.

Целью настоящих исследований являлась оценка таксономического разнообразия активного ила сточных вод производств органического синтеза.

Объектом исследования являлся активный ил очистных сооружений производств органического синтеза. В работе использованы методы гидробиологического анализа, определения дозы и возраста активного ила.

Очистку производственных и смешанных хозяйственно-бытовых и промышленных сточных вод (СВ) предприятия осуществляют соответственно на I и III очередях очистных сооружений. На данных очистных сооружениях реализована классическая схема очистки СВ.

Так как процесс биологической очистки СВ осуществляется активным илом, то именно от его состояния зависит качество очищенных вод. Биоиндикационный «профиль» активного ила позволяет отразить временные сукцессии, зависящие, прежде всего, от химических показателей очищаемых стоков и условий функционирования активного ила.

На первоначальном этапе определяли возраст активного ила. Экспериментально установленный возраст изучаемого активного ила составляет в среднем для I очереди 29 сут, а для III очереди 74 сут. На данных очистных сооружениях функционируют илы большого возраста, для которых характерна низкая биологическая активность, но высокая способность нивелировать залповые сбросы экотоксикантов.

На следующем этапе проводили выявление индикаторного комплекса активного ила различного возраста на каждом этапе процесса биологической очистки: регенерация, начало и окончание процесса биоочистки. Биоценоз I и III очереди представлен в среднем 17 и 15 родами соответственно, относящимися к 4 типам: саркомастигофоры (Sarcomastigophora), инфузории (Ciliophora), немательминты (Nemathelminthes), кольчатые черви (Annelida).

Установлено, что количество родов в активном иле I очереди стабильно выше, чем в III очереди независимо от этапа биологической очистки. Увеличение количества родов с уменьшением возраста ила для регенератора в среднем составляет 31%, для начала процесса БОВ – 7%, для окончания процесса БОВ – 36%. Сравнение илов разного возраста позволяет сделать вывод о том, что чем больше возраст ила, тем ниже количество родов в биоценозе.

# СРАВНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ХЛОРИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ С РАЗНЫМ КОЛИЧЕСТВОМ ГАЛАКТОЗНЫХ ФРАГМЕНТОВ И РАЗЛИЧНОЙ ДЛИНОЙ СПЕЙСЕРА МЕЖДУ ГАЛАКТОЗНЫМИ ФРАГМЕНТАМИ И МАКРОЦИКЛОМ

***Н. Е. Галочкина*[1], *Л. Н. Шестакова*[1], *А. О. Белотелов*[1], *Д. В. Белых*[2], *М. В. Мальшакова*[2], *Н. Ю. Шилягина*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*natalia.volkova.unn@yandex.ru*

[2]Институт химии Коми научного центра УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является одним из перспективных и развивающихся методов лечения онкологических заболеваний, основанным на введении в организм фотоактивного соединения – фотосенсибилизатора (ФС) – и дальнейшем облучении светом с длиной волны, соответствующей пику поглощения соединения. Клинические и экспериментальные исследования фотосенсибилизаторов первого и второго поколения показали необходимость разработки ФС с улучшенными свойствами для достижения большей терапевтической эффективности.

Целью данной работы было исследование фотофизических и фотобиологических свойств потенциальных агентов для ФДТ, представляющих собой ФС хлориновой природы: ХлI-ХлV, различающихся наличием двух или четырех галактозных фрагментов по периферии макроцикла, связанных с ним через третье или четвертое пиррольные кольца и короткие или длинные спейсеры. Нами было показано, что водные растворы исследуемых соединений имеют несколько полос поглощения, расположенных в коротковолновой области (полоса Соре) и длинноволновой области (Q-полоса) спектра. Хлорины I, III-V имеют пики поглощения при 400 нм и 650 нм, для хлорина ХлII характерен сдвиг поглощения на 20 нм в более длинноволновую область спектра. С использованием химической ловушки синглетного кислорода 1,3-дифенилизобензофурана был определен относительный квантовый выход генерации синглетного кислорода в диметилсульфоксиде, который оказался сопоставим с квантовым выходом клинически одобренного препарата Фотодитазин. Наибольшее значение квантового выхода синглетного кислорода было зарегистрировано для соединения ХлI.

Исследование биологических свойств *in vitro* проводили на культурах клеток эпидермальных кератиноцитов человека HaCaT, эпидермоидной карциномы человека А-431 и карциноме толстой кишки СТ-26. Темновую токсичность и фотодинамическую активность оценивали методом МТТ-теста.

Показано, что фотодинамическая активность для ХлI сопоставима с фотодинамической активностью для Фотодитазина. Для ХлV, имеющего большее количество галактозных фрагментов и бóльшую длину спейсера, фотодинамическая активность, зарегистрированная в отношении клеток HaCaT и А-431, превысила фотодинамическую активность ХлI и фотодитазина в 100 и 1000 раз соответственно.

Полученные данные позволяют говорить о перспективности дальнейшего исследования ХлI– ХлV, в том числе на животных-опухоленосителях, с целью выявления соединений лидеров скринингового исследования.

*Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № FSWR-2023-0032.*

# ИЗМЕНЕНИЕ ТРАНСКРИПТОМА ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ЛИНИИ BT549 С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА MYC

***К. А. Гаптулбарова*[1], *И. А. Цыденова*[1], *Е. А. Кравцова*[1], *Д. С. Долгашева*[1], *М. К. Ибрагимова*[1], *А. Г. Першина*[2], *Н. В. Литвяков*[1]**

[1]НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, 634050, Томск, Набережная реки Ушайки, 10;
*Xenia.gaptulbarova@yandex.ru*

[2]Центр биологических исследований и биоинженерии ЦНИЛ СибГМУ, 634050, Томск, Московский тракт 2/18

Клеточная линия рака молочной железы BT549 имеет только одну аплификацию гена стволовости KLF5 и самую низкую из всех стандартных опухолевых линий молочной железы способность к дедифференцировке с образованием маммосфер. С помощью метода CRISPER/Cas9 SAM-активации была получена генетически-модифицированная клеточная линия BT459 с гиперэкспрессией гена MYC. Поэтому целью нашего исследования явилась оценка изменения транскриптома модифицированной линии и ее способности к дедифференцировки по сравнению с исходной.

Исходная и модифицированная клеточные линии были культивированы в полных питательных средах. Полнотранкриптомный микроматричный анализ проводился на микрочипах Clariom™ S Assay, human (ThermoFisher Scientific, USA). Анализ данных осуществлялся при помощи программы Transcriptome Analysis Console (TAC) software 4.0.

Проведено сравнение экспрессионного профиля модифицированной и исходной линий BT549. Гиперэкспрессия белка Myc была подтверждена с помощью антител и по данным микроматричного анализа экспрессия гена MYC повышалась в 5 раз, также значительно повышалась экспрессия еще 3 генов стволовости (SMO, GATA3 и LIFR). В модифицированной линии, была повышена (при FoldChange от 2 до 197) экспрессия 2957 генов (почти 2 тыс из них гены–мишени MYC) и снижена экспрессия 948 генов при FoldChange от 2 до 378). Кроме генов стволовости для дедифференцировки критически важен WNT-сигналинг. Из 172 генов этого pathway активировалось экспрессия 33 генов, а ингибировалась активность 7 генов. Исходная клеточная линия образовывала единичные маммосферы на лунку, частота маммосфер модифицированной линии колебалась от 7 до 15. Это исследование доказывает критически важную роль эктопической гиперэкспрессии генов стволовости, в частности MYC, для способности опухолевых клеток к дедифференцировки.

Наблюдалось изменение транскриптомного профиля у клеток модифицированной линии BT549hyperMYC_clone9, в частности, наблюдалось повышение экспрессии гена MYC, а также еще трех генов стволовости SMO, GATA3, LIFR, а экспрессия генов KLF5 и SNAI2 была снижена, по сравнению с исходной линией. А активация топовых сигнальных путей (Malignant pleural mesothelioma, VEGFA-VEGFR2 signaling pathway, miR-targeted genes in muscle cell, PI3K-Akt-mTOR-signaling pathway, Chemokine signaling pathway) привела к возможности клеток к дедифференцировке.

*Работа поддержана грантом Минобрнауки РФ 075-15-2021-1073.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПОЛЕВКИ-ЭКОНОМКИ (*ALEXANDROMYS OECONOMUS* PALLAS, 1776) МЕТОДАМИ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

***К. А. Геллер***

Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*k.telichko@g.nsu.ru*

Исследована краниальная изменчивость широко распространенного вида, полевки-экономки, из северной и южной частей ареала. Проанализировано 190 экземпляров полевки-экономки с Таймыра, Чукотки и Центрального Алтая из коллекции Сибирского зоологического музея ИСиЭЖ СО РАН. Методами геометрической морфометрии исследована изменчивость конфигурации 14 меток на лингвальной стороне правой нижней челюсти. Особенности строения нижней челюсти, связанные с функциональными нагрузками при питании различными кормами, оценивали по 5 мандибулярным индексам (Васильев и др., 2019). Межгрупповые различия размеров и формы челюсти оценивали дисперсионным и дискриминантным анализом прокрустовых координат меток.

Дисперсионный анализ не выявил значимых половых различий по общему размеру челюсти. Половые различия по форме челюсти оказались значимыми, но доля изменчивости, связанная с полом, значительно меньше по сравнению с географическими различиями, что позволяет пренебречь половыми различиями, поэтому дальнейший анализ географической изменчивости размеров и формы проводился на объединенной по полу выборке.

Дисперсионный анализ показал, что таймырские географические выборки и выборка с территории Чукотки не отличаются друг от друга по общему размеру челюсти. В то же время полевки из Центрального Алтая характеризуются меньшими размерами челюсти, что подтверждает известное правило увеличения размеров животных с увеличением широты местности (Bergmann, 1847).

При анализе формы челюсти распределение географических выборок в пространстве дискриминантных функций в целом соответствует географическому положению выборок, что согласуется с гипотезой изоляции расстоянием (Wright, 1943). Выборки с Чукотки и Центрального Алтая значительно отличаются от таймырских выборок и друг от друга по форме нижней челюсти. Обнаруженные различия между выборками связаны в основном с особенностями строения челюстных отростков. В целом, северные популяции полевки-экономки характеризуются более массивной челюстью.

Мандибулярные индексы характеризуют особенности диеты полевок и способ инструментальной обработки объектов питания (Васильев и др., 2019). Дисперсионный анализ показал, что полевки, населяющие лесотундру в окрестностях Норильска и на Чукотке, практически не различаются по мандибулярным индексам, и, следовательно, по характеру питания. В то же время полевки из популяций Таймыра и Чукотки характеризуются большей, по сравнению с полевками из Центрального Алтая, величиной индексов, отражающих степень грызущих и дробящих пищу движений нижней челюсти, что, по-видимому, связано с увеличением в их рационе доли жестких кормов.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИОФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА РОСТ И ИЗМЕНЕНИЯ ФЕНОТИПА КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ MDA-MB-231 В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

***С. Д. Гефтер*[1], *А. Д. Поспелов*[1], *Т. А. Здобнова*[1], *Д. Б. Трушина*[2, 3], *Ю. М. Ефремов*[2], *М. Ю. Карпушин*[1], *А. А. Соколов*[1], *И. В. Балалаева*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *sofia.gieftier.00@mail.ru*

[2]Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8

[3]ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59

Опухолевые клетки при формировании солидной опухоли и метастазировании активно взаимодействуют с внеклеточным матриксом (ВКМ). Модели опухолевого роста на основе ВКМ позволяют наиболее приближенно к условиям *in vivo* изучить клеточно-матриксные взаимодействия, информация о которых важна как для фундаментальных исследований в области онкологии, так и для прикладного использования при терапии опухолей.

Целью работы было исследование воздействия биофизических параметров внеклеточного матрикса на рост и изменение фенотипа клеток рака молочной железы MDA-MB-231 в условиях *in vitro*.

Для получения внеклеточных матриксов мышиные органы (легкие, печень и почки) фрагментировали и децеллюляризировали. Их последовательно выдерживали в детергентах различных концентраций: Triton X-100, SDS и SDC. Полученные децеллюляризированные (ДЦЛ) матриксы отмывали от детергентов выдержкой в PBS и насыщали питательными компонентами, выдерживая в полной питательной среде DMEM. Для анализа архитектоники ДЦЛ матриксов проводили сканирующую электронную микроскопию (Hitachi™ 4000Plus). Биомеханические параметры исследовали посредством макроиндентации (Mach-1™ v500csst) и наноиндентации (BioScope Resolve microscope). Полученные ДЦЛ матриксы подвергали рецеллюляризации. Для этого матриксы размещали в 6-луночных планшетах с пониженной адгезией, в каждый матрикс вкалывали $3\times10^5$ опухолевых клеток и заливали лунку планшета культуральной средой. Постоянную циркуляцию среды обеспечивали путем размещения планшета на орбитальном шейкере. Для оценки морфологии и инвазивного потенциала клеток при росте в ДЦЛ матриксах проводили стандартное гистоморфологическое исследование. Для оценки клеточного фенотипа проводили анализ экспрессии маркерных генов эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) методом ПЦР в реальном времени.

В ходе работы были выявлены следующие закономерности. Повышение степени заселенности опухолевыми клетками демонстрировалось в ДЦЛ матриксах с понижением уровня компактизации матриксных волокон, локальной и суммарной жесткости, а также увеличением пор. Во всех ДЦЛ матриксах наблюдались мезенхимальные морфология и фенотип исследуемых опухолевых клеток; в то же время при росте в матриксах была выявлена повышенная, по сравнению с монослоем, экспрессия генов, индуцирующих ЭМП. После двух недель роста в ДЦЛ матриксах наблюдалась общая тенденция изменения экспрессии, свидетельствующая об адаптации клеток к новым трехмерным условиям и усилении инвазивного потенциала. На основании данных результатов, демонстрирующих приближенное к реальному развитие опухоли *in vivo*, мы предполагаем, что модели опухолевого роста на основе ВКМ являются подходящей платформой для изучения влияния микроокружения на опухолевые клетки.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (код проекта FSWR-2023-0032).*

# ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНОГО ШТАММА *BACILLUS PUMILUS* 3-19 (ΔSIGF) МЕТОДОМ РЕДАКТИРОВАНИЯ CRISPR/CAS9. ХАРАКТЕРИСТИКА ДИНАМИКИ РОСТА И СПОРООБРАЗОВАНИЯ.

***А. И. Гильмутдинова*, Ю. А. Васильева, И. В. Дядькина, Ю. В. Данилова**
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*aigwinrygilmyizn@gmail.com*

Виды *Bacillus* являются активными продуцентами многих промышленных ферментов, таких как протеазы, амилазы, липазы и многие другие. Особое промышленное внимание к этому роду обусловлено быстрыми темпами роста бактерий, обеспечивающие короткие циклы ферментации, и способностью выделять значительное количество белков во внеклеточную среду, что характеризует преимущества при их последующей обработке. Однако одним из нежелательных свойств штамма продуцента является спорообразование, которое повышает требования и трудность некоторых промышленных операций. Активно растущая потребность в ферментах и их производстве экономически эффективным способом требует разработки оптимизированных производственных штаммов. Таким образом, работа предлагает создание продуцента с предпочтительными характеристиками в связи с чем, актуально получить аспорогенный вариант родительского штамма, сконструированный методом редактирования CRISPR/Cas9, путем инактивации одного из основных генов-регуляторов (sigF), участвующих в спорообразовании.

Ранее в наших исследованиях был создан вектор (pGAs11.21) для инактивации гена сигма-фактора спорообразования (sigF) в геноме *B. pumilus* 3-19. С целью получения мутантного штамма, данную плазмиду трансформировали в клетки родительского штамма, оптимизированным методом электропорации. Далее производили отбор трансформантов, для последующей инактивации гена sigF, осуществляемой при 30°C на среде с добавлением 0,2% ксилозы. Она необходима для индукции гена cas9, находящегося на сконструированной плазмиде под контролем ксилоза-индуцируемого промотора (Pxyl). Далее после двухдневного культивирования отбирали колонии и помещали на агаризованную среду без антибиотика, инкубировали при 42°C. Сконструированная плазмида pGAs11.21 содержит температура-чувствительный ориджин репликации pE194ts, таким образом культивирование при повышенной температуре приводит к потере плазмиды. Внесение изменения в геном штамма подтверждали секвенированием. Полученный мутантный штамм имеет генотип strR, Δ sigF. В результате исследования динамики роста выявлено, что полученный мутантный штамм обладает более продолжительной стационарной фазой, которая наступает на 31 час культивирования, в сравнение с контрольным штаммом, стационарная фаза которого наступает с 25 часа культивирования. Динамика спорообразования *B. pumilus* 3-19 характеризуется наличием спор с 25 часа, максимальное значение составляет 19% и наблюдается на 47 час. Исследуемый мутантный штамм *B. pumilus* 3-19 (ΔsigF) является аспорогенным.

Проведена инактивация гена фактора споруляции sigF. Получен аспорогенный мутантный штамм *B. pumilus* 3-19 (Δ sigF), с более продолжительной стационарной фазой роста.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект 22-16-00138).*

# ВОССТАНОВЛЕНИЕ МУТАНТНОГО БЕЛКА ВОЗДЕЙСТВИЕМ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

***Э. М. Гилязова*, Д. Р. Давлетшин, Р. Р. Хадиуллина, Р. М. Миргаязова, В. В. Часов, Э. Р. Булатов**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *elvina281097@mail.ru*

Белок p53 представляет собой фактор транскрипции, который сохраняет целостность генома, так как белковые продукты его генов-мишеней участвуют в остановке клеточного цикла, апоптозе и репарации ДНК. Ген белка p53 TP53 является одним из наиболее часто мутировавших генов при опухолевых заболеваниях человека. Наиболее частыми онкогенными мутациями в белке p53 являются миссенс-мутации в ДНК-связывающем домене. Такие мутации приводят к дестабилизации третичной структуры белка и к потере его транскрипционной активности. В опухолевых клетках с мутантным p53 могут наблюдаться неконтролируемая пролиферация, ингибирование апоптоза и резистентность к противоопухолевым лекарственным препаратам. Реактивация мутантного белка низкомолекулярными соединениями является актуальной стратегией в качестве терапевтического лечения опухолей человека. Таким образом, целью работы является оценка эффективности производных (1H-пиррол-1-ил) индазола в качестве модуляторов активности мутантных белков p53R248W, p53R273H и p53R248Q.

В работе использовали следующие клеточные линии: SNB-19 p53R273H, Mia PaCa-2 p53R248W, Ovcar-3 p53R248Q и A549 p53wt. Для оценки цитотоксичности и определения значения IC50 был проведен колориметрический MTS тест. Для этого клетки были обработаны веществами в диапазоне концентраций от 0 до 200 мкМ. Полученные данные обрабатывали в программе GraphPad Prism: строили графики зависимости жизнеспособности клеток (%) от логарифма концентраций веществ и рассчитывали концентрации полумаксимального ингибирования. Оценка экспрессии уровня белков p53 и p21 проводилась Вестерн-блот анализом.

Полуингибирующие концентрации для трех производных (1H-пиррол-1-ил) индазола на клеточных линиях с мутацией p53 находятся в диапазоне концентраций от 40 до 150 мкМ. для A549 p53wt IC50 составляет больше 150 мкМ для всех соединений. Уровень экспрессии белка p53 в этих же клеточных линиях также был больше, чем в клеточной линии A549 p53wt, о чем свидетельствуют результаты Вестерн-блот анализа. Также под действием веществ, относительно контроля с ДМСО, происходит повышение уровня белка p21.

Результаты исследования показали, что исследуемые производные (1H-пиррол-1-ил) индазола оказывают специфическое воздействие на клеточные линии с мутантным p53. Также было обнаружено, что соединения повышают экспрессию белков генов-мишеней p53, связанных с остановкой клеточного цикла.

*Работа выполнена за счет гранта РНФ 22-24-20034.*

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

***Н. С. Глазкова*, *А. Е. Алексеева*, *Л. Б. Луковникова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*Nglazkova7728@gmail.com*
Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Бактерии вида *Klebsiella pneumoniae* являются условно-патогенными микроорганизмами, населяющими желудочно-кишечный, урогенитальный и респираторный тракт человека. Однако, они могут стать источником тяжелых инфекционных заболеваний. Штаммы *K. pneumoniae*, обладающие множественной лекарственной устойчивостью сегодня остаются одними из наиболее опасных и распространенных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и вызывают серьезные опасения в сфере здравоохранения. Поэтому имеется необходимость в изучении популяционной структуры клинических штаммов *K. pneumoniae*, оценке разнообразия механизмов устойчивости на генетическом уровне, что позволило бы вовремя назначать адекватную антибиотикотерапию. Настоящая работа посвящена оценке молекулярно-генетических механизмов, определяющих лекарственную устойчивость клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*.

Объектом исследования служили чистые культуры клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью. Три исследуемых изолята были выделены из раневого отделяемого у пациентов больных ожоговой болезнью в клинике ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава РФ. Остальные штаммы были выделены от детей, находившихся на стационарном лечении в медицинских организациях г. Нижнего Новгорода. Полногеномное секвенирование штаммов *K. pneumoniae* проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Сборку чтений de novo осуществляли с использованием сервиса Assembly и программного обеспечения SPAdes. Аннотирование проводили с использованием онлайн-сервиса Center for Genomic Epidemiology. Поиск детерминант антибиотикорезистентности проводили с использованием базы данных Comprehensive Antibiotic Resistance Database и сервера Center for Genomic Epidemiology. Показано, что в настоящее время в детских медицинских учреждениях и взрослых ожоговых отделениях Нижнего Новгорода в популяции полирезистентных штаммов *Klebsiella pneumonia* обнаружены представители разных сиквенс-типов, среди которых доминируют штаммы сиквенс-типа ST395. Установлены генетические детерминанты антибиотикорезистентности исследуемых штаммов к сульфаниламидам; тетрациклинам; хлорамфениколам, фторхинолонам; аминогликозидам; бета-лактамазам разных функциональных групп. Обнаружены штаммы, обладающие резистентностью ко всем основным классам антибиотиков, в том числе к препаратам последнего резерва.

Полученные данные расширяют представления о разнообразии популяционной структуры нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae*, обладающих антибиотикорезистентностью. Анализ обнаруженных детерминант устойчивости показывает, что среди штаммов клебсиелл, циркулирующих на территории Нижегородских стационаров, прогрессирует устойчивость к препаратам глубокого резерва, что существенно сокращает арсенал эффективных антибиотических препаратов.

# ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ОКСИГЕНАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТИАНГИОГЕННОГО ПРЕПАРАТА

***А. М. Глявина*[1, 2], *К. Г. Ахмеджанова*[1, 2], *А. А. Курников*[1], *Ю. А. Хоченкова*[3], *Д. А. Хоченков*[3], *А. Б. Воловецкий*[4], *И. В. Турчин*[1], *П. В. Субочев*[1], *А. Г. Орлова*[1]**

[1]Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46; *annaglyavina@gmail.com*

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

[3]НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115522, Москва, Каширское шоссе, 23

[4]Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8

Между сосудами нормальной и опухолевой ткани существуют различия, которые способствуют формированию участков гипоксии опухоли, препятствуют доставке лекарственных препаратов, в итоге вызывая снижение чувствительности к терапии. Антиангиогенная терапия способствует нормализации сосудистого русла новообразования.

Целью работы было исследование эффектов антиангиогенного препарата на оксигенацию экспериментальных опухолей. Для оценки уровня оксигенации использовался метод оптической диффузионной спектроскопии (ОДС). Для верификации данных ОДС проводилось иммуногистохимическое (ИГХ) исследование опухолевых тканей с маркером гипоксии пимонидазолом (ПМ). Для терапии использован таргетный препарат Акситиниб, который является ингибитором тирозинкиназных рецепторов фактора роста эндотелия сосудов (VFGFR-1, VEGFR-2 и VEGFR-3), участвующих в механизмах патологического ангиогенеза, опухолевого роста и метастазирования злокачественных новообразований.

Исследование было проведено на мышах самках линии Balb/c-nude с привитыми подкожно опухолями на основе клеточной линии Colo320 (рак толстого кишечника человека, n=10). Акситиниб вводили перорально с 9 по 37 сутки роста опухоли ежедневно каждые пять дней в неделю в дозировке 50 мг/кг. Объем опухоли измеряли каждые 4-7 дней. ОДС исследование проводили начиная с 9 дня роста опухолевого узла с интервалом 7 дней до 37 суток роста новообразований.

Для ОДС исследований животные под изофлурановым наркозом закреплялись в положении на боку на переносной опорной пластине. Была использована установка (ИПФ РАН) с оптическим зондом из четырех волокон, использующая в качестве источника светодиод с длиной волны 400-700 нм и спектрометр в качестве детектора. Для ИГХ после введения ПМ опухоли извлекали и изготавливали криосрезы, которые окрашивали с использованием мышиных флуоресцентно-меченных антител к ПМ. Относительную гипоксическую фракцию (RHF) рассчитывали как процент площади ПМ-положительных зон от общей площади образца.

В ходе работы показано, что опухоли на фоне действия Акситиниба имели объем в 6 раз меньше, чем в контрольной группе. Коэффициент торможения роста опухоли составил 83,9%. Методом ОДС показано, что в нелеченых опухолях наблюдалось быстрое снижение уровня насыщения крови кислородом ($StO_2$) в течение первых 14 дней эксперимента и оставалось сниженным до окончания исследования. На 20-30 сутки лечения StO2 превышал контрольный в 2 раза. Статистически значимых различий в кровенаполнении выявлено не было. ИГХ анализ показал более высокие значения RHF (34 ± 23%) после воздействия Акситинибом по сравнению с контрольными (13 ± 8%) демонстрируя не значимое повышение площади зон гипоксии.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-15-00032.*

# ФОРМИРОВАНИЕ ОРГАНОИДОВ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ТИПА НА ОСНОВЕ SCA1-ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК ЛЕГКИХ

***И. А. Говорова*, О. И. Сутягина, С. Ю. Никиточкина, Ю. А. Новикова, Е. А. Воротеляк**
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26;
*ischenko.i.a@gmail.com*

Органоиды легких представляются актуальным инструментом для изучения процессов, ответственных за нормальное развитие альвеолярных участков и верхних дыхательных путей. Важным свойством органоидов легких является их регион-специфичность, а именно дифференцирование на альвеолярные, бронхиолярные и бронхо-альвеолярные. Получение определенного типа органоидов легких является методологической задачей, лежащей в основе дальнейших исследований баланса взаимодействия эпителиальных и мезенхимных клеток, их регенеративного потенциала и ключевых сигнальных путей. Согласно литературе, сочетание эндотелиальных и неонатальных стромальных клеток со Sca1- фракцией эпителия приводит к образованию альвеолярных органоидов, а со Sca1+ - обеспечивает формирование всех трёх типов. Данная тенденция, вероятно, сохраняется и при сочетании указанных фракций эпителия с мезенхимой в постнатальный период. В работе апробирован метод формирования эпителио-мезенхимных органоидов альвеолярного типа.

Клетки выделяли из легких половозрелых мышей P30 линии C57Bl/6. Легкие были перфузированы и интратрахеально заполнены диспазой (50U/ml). После измельчения, ткани инкубировали с коллагеназой IV типа (1000 U/ml) и 0,0025% ДНКазы. Далее путём магнитного сортинга удаляли клетки крови (CD45+) и эндотелия (CD31+). Полученную CD45-CD31-фракцию, содержащую клетки эпителия и мезенхимы, окрашивали антителами против эпителиального маркёра EpCAM и антигена стволовых клеток Sca1. При анализе методом проточной цитофлуориметрии были выявлены EpCAM+Sca1- (28,9%), EpCAM+Sca1+ (1,4%) и EpCam-Sca1- (69,7%) клеточные популяции. Путём флуоресцентного сортинга были изолированы EpCAM+ Sca1- и EpCAM-Sca1- фракции клеток.

Живые клетки субпопуляций EpCAM+Sca1- и EpCAM-Sca1- смешивали в соотношении 1:9 (200 тыс. на лунку), соответственно. Клеточную суспензию ресуспендировали с матригелем без факторов роста (1:1) и вносили во вставки Transwell (0,4 мкм).

Сформировавшиеся на 21 сутки органоиды были визуально разделены на (1) малые, округлые и (2) большие, неполые, несимметричные. Преобладали органоиды первого типа – их было в 10 раз больше, чем органоидов второго типа. ИГХ анализ выявил экспрессию маркера альвеолярного эпителия (аквапорин 5) и не выявил экспрессию маркера клеток верхних дыхательных путей (секретоглобин). Стоит отметить, что при культивировании органоидов на основании тотальной фракции клеток легких были получены органоиды всех трех типов, экспрессирующие соответствующие маркеры эпителия. Таким образом, органоиды, полученные на основе EpCAM+Sca1- клеток при сочетании с клетками мезенхимы были идентифицированы как альвеолярные.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №21-74-30015).*

# ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОПЛАНКТОНА Р.ПЬЯНА

***В. В. Головина*, *Е. Л. Воденеева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*naturesoooul@mail.ru*

Река Пьяна является крупнейшим притоком Суры и большой «внутренней» рекой Нижегородской области; характеризуется выраженной извилистостью. Длина водотока 436 км, площадь бассейна – 8060 км$^2$, средний расход воды – 25 м$^3$/с. Водоток характеризуется изменчивым минеральным составом: воды истока относят к гидрокарбонатному классу, группе кальция; среднего и нижнего течения – сульфатному. Река Пьяна – уникальный объект для исследования состава и структуры фитопланктона лотических водных экосистем в условиях высокой минерализации вод.

Целью исследования был анализ пространственного распределения альгоценозов р. Пьяны. Материалом для работы послужили пробы фитопланктона, отобранные в летнюю межень 2021 г., а также архивные данные за 2006 и 2007 гг. Отбор и обработка материала проводились общепринятыми в альгологии методами.

Видовое богатство фитопланктона р. Пьяна представлено 149 таксонами рангом ниже рода, относящимся к 7 отделам. Преобладали зеленые (46–49% от общего состава) и диатомовые (27–33%) водоросли. Сходство состава в разные годы было слабым (30% по коэффициенту Серенсена). В 2021 г. снижалось разнообразия золотистых и эвгленовых, доля других групп (Cyanophyta, Dinophyta и Cryptophyta) сохранялась (1–8%). Сходство состава по течению реки также было невысоким (от 10 до 65% в 2006 г. и от 17 до 81% в 2021 г.). Согласно кластерному анализу, более четкое выделение флористических комплексов фитопланктона верхнего, среднего и нижнего участков течения отмечено в 2021 году.

Численность и биомасса фитопланктона по течению реки в 2006 г. варьировали от 0,12 до 3,91 млн кл./л и от 0,09 до 3,02 г/м$^3$ соответственно, в 2021 г. – от 1,42 до 104,32 млн кл./л и от 0,06 до 38,41 г/м$^3$. По средним значениям биомассы (0,66 г/м$^3$) трофический статус реки в 2006 г. оценивался как олиготрофный, в 2021 г. статистически значимо возрастал до мезотрофно-эвтрофного уровня (3,78 г/м$^3$). Распределение показателей развития альгоценозов по реке было неравномерным. По численности доминировали зеленые и цианобактерии, по биомассе формировались полидоминантные комплексы, включающие диатомей и представителей фитофлагеллят, развитие которых достигало степени «цветения» (*Carteria* sp. – до 29 г/м$^3$, 76%) на отдельных станциях. Индексы сапробности по биомассе (1,90–2,04) и по численности (2,14–2,2) фитопланктона соответствовали III классу качества, «умерено-загрязненная». Качество воды по индексу сообщества Q в 2006 г. менялось от умеренного до высокого; в 2021 г. – от низкого до хорошего. Наиболее загрязненный участок – вблизи п. Бутурлино, где отмечена высокая антропогенная нагрузка.

# YAP/TAZ КАК МИШЕНЬ ДЛЯ ГЕРОПРОТЕКТОРНЫХ ИНТЕРВЕНЦИЙ

***Д. А. Голубев*, Н. В. Земская, А. А. Горбунова, Д. В. Кукумань, А. А. Москалев, М. В. Шапошников**

Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; *denismeatboy@gmail.com*

С увеличением среднего возраста населения развитых стран на первый план в современном здравоохранении выходит проблема профилактики преждевременного старения и лечения возраст-зависимых заболеваний. Старение является основным фактором риска возрастных заболеваний. Поэтому наиболее перспективный подход связан с разработкой средств, воздействующих на основные молекулярные механизмы, связанные со старением, с целью подавления патологических процессов и активации защитных систем клетки и организма в целом.

Целью настоящего исследования было выяснить, могут ли фармакологические ингибиторы Yki/Yap/Taz улучшить продолжительность жизни *D. melanogaster*. Нами было изучено влияние фармакологических ингибиторов Yki/Yap/Taz на продолжительность жизни *D. melanogaster*. Были использованы следующие вещества с ранее установленным ингибиторным действием на активность Yap/Taz: Verteporfin, ML-7 гидрохлорид, Cytochalasin D и AICAR. Эксперимент был выполнен с использованием линии дикого типа C-S. Линии дрозофил культивировали на питательной среде с добавлением янтарной кислоты ингибиторов Yap/Taz Verteporfin (VP, #SML0534, Merck, USA), ML-7 hydrochloride (ML7, #I2764, Merck, USA), Cytochalasin D (CD, #C8273, Merck, USA), AICAR (AI, #A9978, Merck, USA).

Нами установлено, что обработка ингибиторами YAP/TAZ в течение первых 10 сут. жизни имаго приводит к снижению уровня поздней смертности. При этом увеличение продолжительность жизни в ответ на воздействие ингибиторов YAP/TAZ связано со снижением уровня экспрессии генов wg и E2f1. Установлено, что геропротекторное действие отдельных ингибиторов сопровождается повышением уровня устойчивости к гипертермии (AICAR) и улучшением состояния кишечного барьера (Verteporfin, ML-7, AICAR) у мух в старом возрасте. В зависимости от исследуемого вещества наблюдали как увеличение (ML-7 и Cytochalasin D), так и снижение (Verteporfin и AICAR) продукции CO2 в сочетании с геропротекторным эффектом. Таким образом наши результаты предполагают, что интервенции, направленные на активность YAP/TAZ, могут обеспечить новые подходы к борьбе со старением и увеличению продолжительности жизни. Тем не менее, для дальнейшего понимания роли сигнального пути YAP/TAZ в старении организма и формировании его продолжительности жизни необходимы дальнейшие исследования.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ N 22-24-00961.*

# УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА, ТРАНСДУЦИРОВАННЫХ КОМБИНАЦИЕЙ АДЕНОВИРУСОВ AD5-VEGF165, AD5-GDNF И AD5-NCAM-1

***М. А. Голубенко*, А. С. Яковлева, С. С. Архипова, И. И. Салафутдинов**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *golubenckomasha@yandex.ru*

Доставка терапевтических генов путем является перспективным направлением регенеративной медицины. В качестве средств доставки изучаются мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК). Повысить терапевтический потенциал МКПК возможно путем генетической модификации: для лечения нейродегенеративных заболеваний рассматривается сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF), невральная молекула межклеточной адгезии (NCAM). Однако многие особенности модифицированных МКПК остаются неизученными. В связи с этим, исследовать гетерогенность популяций МКПК пуповинной крови человека немодифицированных и модифицированных (Ad5-GFP или комбинацией Ad5-VEGF165, Ad5-GDNF и Ad5-NCAM-1) представляется актуальным.

МКПК были выделены из пуповинной крови в градиенте плотности фиколла (ПанЭко, Россия) и поддерживались на среде RPMI-1640 (Sigma) с добавлением 10% FBS (Sigma) и смеси антибиотиков пенициллина и стрептомицина (100 ЕД/мл; 100 мкг/мл) (Sigma). Для трансфекции применяли метод электропорации, оценку эффективности трансфекции проводили путем флуоресцентной микроскопии по количеству EGFP позитивных клеток и проточной цитометрии. Для оценки гетерогенности популяции МКПК был проведен ультраструктурный анализ путем трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) и иммунофенотипическая характеристика путем проточной цитометрии.

Ультраструктурный анализ МКПК показал как у модифицированных, так и у немодифицированных клеток цитоплазму, богатую органоидами, что свидетельствует об активном функционировании клеток и биосинтезе ими белков. В ядре кариолемма клеток четкая, форма ядер варьирует в зависимости от морфологического типа клеток.

Было установлено, что в популяции немодифицированных МКПК CD19+ B-лимфоциты составляют 6,9%, CD3+ T-лимфоциты составляют 56,3%, CD3+CD8 T-цитотоксические лимфоциты составляют 12,2%, CD3+CD4 T-хелперы составляют 41,9%, CD14+ моноциты составляют 12,3%, CD56+ натуральные киллеры составляют 1,2%. По результатам анализа, значимых изменений в иммунофенотипе модифицированных МККП человека обнаружено не было.

С использованием трансмиссионной электронной микроскопии была показана гетерогенность популяций мононуклеарных клеток крови пуповины человека, как модифицированных (Ad5-GFP или комбинацией Ad5-VEGF165, Ad5-GDNF и Ad5-NCAM-1), так и немодифицированных. В исследованных образцах были визуализированы различные морфологические типы клеток, что коррелирует с данными, полученными в ходе проточной цитометрии.

# ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС С МОДЕЛЬЮ ШИЗОФРЕНИИ

***Е. А. Горохова*, *Р. Г. Каримова***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*katyusha_gorokhova@bk.ru*

Шизофрения – самое распространенное гетерогенное психическое расстройство в мире, плохо поддающееся лечению современными методами. Распространенность шизофрении составляет менее 1 % в мире. Заболевание влияет на раннее развитие мозга и выражается в сочетании психотических симптомов, таких как галлюцинации, бред и дезорганизация, с мотивационными и когнитивными нарушениями.

Согласно последним исследованиям, ключевое значение в патофизиологии шизофрении имеет блокировка рецептора N-метил-D-аспартата. Рецепторы N-метил-D-аспартата относятся к группе ионотропных рецепторов глутамата. Они играют важную роль в возбуждающей синаптической передаче, открывая лиганд-зависимые трансмембранные ионные каналы.

На сегодняшний день известно, что введение антагониста NMDA-рецепторов дизоцилпина, или МК-801 крысам вызывает у них симптомы, схожие с симптомами шизофрении у человека.

Перед нами стояла цель – проанализировать поведенческие реакции крыс при введении МК-801.

Эксперименты проведены на белых крысах линии Wistar в возрасте от 3 месяцев. Во время эксперимента крысы содержались в стандартных условиях вивария университета в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) при температуре окружающего воздуха 22±2°С, 12-часовом синхронизированном световом режиме, с комбинированным кормом и водой в свободном доступе. МК-801 (0,08 мг/кг) вводили ежедневно в течение 5 дней. Для изучения поведенческих реакций использовали тест «открытое поле».

Статистический анализ проводили методами непараметрического анализа с использованием программного обеспечения OriginPro (OriginLab, США). Использовали тесты Mann Whitney One-Sample Wilcoxon Signed Rank Test.

Введение антагониста NMDA-рецепторов вызывает повышение двигательной активности крыс в периферической зоне «открытого поля» на третий день (78,2±6,09 исследованных квадратов против 51,1±3,11 в контроле, $p<0,05$). Вертикальная исследовательская активность, выраженная в количестве вертикальных стоек напротив снижается уже после первого введения МК-801 (2,4±0,08 против 14,5±1,25 в контроле, $p<0,05$).

Дизоцилпин моделирует позитивные симптомы шизофрении такие как гиперактивность на третий день введения, тогда как негативные (снижение исследовательской активности) проявляются уже после однократного введения МК-801.

# АНАЛИЗ ДИНАМИКИ И СТРУКТУРЫ ПАРАЗИТАРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В РЕСПУБЛИКЕ МАРИЙ ЭЛ ЗА 2018-2021 Г.Г.

***Р. Г. Горячева*[1, 2], *Н. В. Турмухаметова*[1]**

[1]Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*roza20111973@mail.ru*

[2]Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Марий Эл, 424007, Йошкар-Ола, ул. Машиностроителей, 121

На территории России аскаридоз и энтеробиоз являются наиболее распространёнными инвазиями в группе геогельминтозов, что составляет 15 % от общего числа больных гельминтозами. Цель работы – анализ динамики заболеваемости геогельминтозами в Республике Марий Эл (РМЭ).

Анализ проводился на основе: ежегодных отчетов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Марий Эл» по паразитарным заболеваниям, данных лабораторных исследований почвы и осадков сточных вод, сведений медицинских лечебных и профилактических учреждений по обследованию разных категорий населения.

Установлено, что в 2018 г. произошло снижение заболеваемости аскаридозом – на 12,4% (показатель выше среднего многолетнего уровня (далее СМУ) на 12,5%), энтеробиозом – на 2,3% (показатель ниже СМУ на 3%), доля детей среди заболевших аскаридозом составила – 95,6%, энтеробиозом – 97,9%.

В 2019 г. произошло увеличение заболеваемости аскаридозом – на 4,3% (показатель выше СМУ на 13,5%), снижение заболеваемости энтеробиозом – на 11,4% (показатель ниже СМУ на 15,2%), доля детей в популяции заболевших аскаридозом 88,5%, энтеробиозом – 98,7%.

В 2020 г. в РМЭ было выявлено 38 случаев заболевания аскаридозом, что в 2,5 раза ниже, чем в 2019 г. (показатель ниже СМУ в 2,4 раза), также снизился показатель заболеваемости энтеробиозом на 35,7% (показатель ниже СМУ на 45%). Доля детской заболеваемости составила – 94,7% и 98,5%, соответственно.

В РМЭ в 2021 г. произошло увеличение заболеваемости аскаридозом – с 38 до 59 случаев (показатель ниже СМУ на 29,1%), снижение по энтеробиозу – на 15,3% (показатель ниже СМУ на 49,1%). Снижение контактными гельминтозами было вызвано эпидемиологической ситуацией в стране в связи с сокращением посещения детских образовательных учреждений.

При лабораторных исследованиях почвы и осадков сточных вод были выявлены возбудители паразитозов: 2018 г. – 5 случаев, 2019 г. – 3; 2020 г. – 4; 2021 г. – 5 случаев обнаружения инвазионных яиц геогельминтов.

Таким образом, показатели заболеваемости аскаридозом и энтеробиозом в РМЭ значительно варьируют. Важную роль в эпидемиологическом процессе играют природно-климатические и социальные факторы. Наиболее уязвимой группой являются дети в возрасте до 14 лет. Наличие в окружающей среде инвазионных яиц аскарид и яиц остриц обуславливает риск заражения населения, сохранение жизнеспособности яиц в течение длительного времени усиливает угрозу новых заражений.

# ГЕНОТИП-ЗАВИСИМОЕ ДЕЙСТВИЕ НОКДАУНА ГЕНА CC2D1A У ЛИНИЙ МЫШЕЙ C57BL/6J И ASC

***Ю. Д. Григорьева*[1, 2], *Е. М. Кондаурова*[1], *Т. В. Ильчибаева*[1], *В. С. Науменко*[1]**
[1]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10; *grigorevaulia465@gmail.com*
[2]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

Перспективной стратегией изучения и лечения патологий ЦНС является непосредственное манипулирование экспрессией генов. Такой подход осуществляется при помощи векторов, обеспечивающих доставку генетического материала и его экспрессию в клетке. Генетические конструкты на основе аденоассоциированных вирусов, являются наиболее эффективными векторами для клеток млекопитающих так, как являются непатогенными, имеют низкий уровень иммуногенности, обеспечивают длительную экспрессию генов *in vivo* без встраивания в геном хозяина. Таким образом, данные вектора являются как надежным средством для доставки генетического материала в клетки, так и перспективным инструментом для генной терапии.

В данной работе изучалась эффективность использования таких векторов для подавления экспрессии гена Cc2d1a в гиппокампе мышей двух разных генетических линий: C57BL/6J и ASC (с генетической предрасположенностью к депрессивно-подобному поведению). Ген Cc2d1a кодирует белок FREUD-1, который является сильным репрессорным фактором для гена 5-HT1A серотонинового рецептора. Сверхэкспрессия Cc2d1a продемонстрировала потенциальную роль гена в изменении регуляции 5-HT1A рецепторов при таких расстройствах, как тревога и глубокая депрессия.

Исследование показало, что нокдаун гена Cc2d1a в гиппокампе приводит к снижению депрессивно-подобного поведения в тесте «Принудительное плаванье», как у мышей C57BL/6J ($p<0,001$), так и у ASC ($p<0,01$). Тест «Водный лабиринт Морриса» показал наличие межлинейных различий: на пятый день теста мыши C57BL/6J из опытной группы меньше времени проводили в целевом квадранте ($p>0,05$) тогда, как животные линии ASC опытной группы проводили наоборот больше времени в целевом квадранте ($p<0,01$).

Введение вирусного конструкта привело к снижению уровня мРНК гена Cc2d1a и уровня его белка как у мышей C57BL/6J ($p<0,01$), так у и ASC ($p<0,05$) в гиппокампе. У мышей линии C57BL/6J было обнаружено достоверное снижение функциональной активности 5-HT1A рецептора ($p<0,01$) без изменения уровня мРНК гена Htr1a ($p>0,05$) и белка ($p>0,05$). Мыши линии ASC продемонстрировали противоположные результаты: функциональная активность 5-HT1A достоверно выросла ($p<0,05$), в то время, как уровень мРНК гена Htr1a снизился ($p<0,05$), а уровень белка остался неизменным ($p>0,05$).

Таким образом, использование векторов на основе аденоассоциированных вирусов оказалось эффективным для подавления экспрессии гена Cc2d1a в гиппокампе. Нокдаун привел к снижению депрессивно-подобного поведения у мышей двух исследованных линий, но по-разному повлиял на формирование пространственно-временной памяти. Кроме того, снижение экспрессии целевого гена противоположным образом отразилось на функциональной активности и экспрессии 5-HT1A серотонинового рецептора для мышей с отличающимся генетическим бэкграундом.

*Исследование осуществлено по бюджетному проекту FWNR-2022-0023.*

# ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* И *SALMONELLA* SPP. К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ ДИСКО-ДИФФУЗИОННЫМ МЕТОДОМ

***А. Губейко***

Полесский государственный университет, 225710, Республика Беларусь, Пинск, Брестской обл., ул. Днепровской флотилии, 23; *asagubejko@gmail.com*

В последние годы проблема появления и распространения штаммов микроорганизмов, резистентных к используемым бета-лактамным антибиотикам приобретает угрожающие масштабы. Быстрая выработка антибиотикорезистентности к бета-лактамным антибиотикам характерна для штаммов бактерий семейства Enterobacteriaceae. В связи с этим необходим мониторинг чувствительности к бета-лактамным антибиотикам не только среди клинических изолятов, но и среди изолятов, выделенных из объектов окружающей среды, для получения общей картины о резистентности, что в дальнейшем рекомендуется учитывать при выборе антибиотиков для лечения кишечных инфекций.

Цель работы – изучение чувствительности штаммов *Escherichia coli* и *Salmonella* spp., выделенных из окружающей среды г. Пинска, к бета-лактамным антибиотикам диско-диффузионным методом.

Выделяли три штамма *E. coli* и два штамма *Salmonella* spp. из почвы и воды. Идентификацию этих штаммов осуществляли по определителю Берджи, основанном на морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойствах микроорганизмов.

Чувствительность выделенным штаммов микроорганизмов к бета-лактамным антибиотикам определяли диско-диффузионным метод, учитывая стандарт, представленный Европейским комитетом по определению чувствительности микроорганизмам к антибиотикам. Для исследования были взяты бета-лактамные антибиотики: цефтриаксон, цефепим, цефексим, цефтазидим, цефотаксим, тикарциллин + клавулановая кислота, мерпенем.

Согласно результатам идентификации по определителю Берджи выделенные бактерии по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам идентифицированы как *E. coli* и *Salmonella* spp. Три штамма бактерий *E. coli*, выделенные из почвы и воды, оказались устойчивыми ко всем исследуемым антибиотикам, однако *E. coli*, выделенная из воды фонтана, демонстрировала чувствительность к цефексиму. Один штамм *Salmonella* spp., выделенный из почвы, оказался устойчивый к цефепиму, цефексиму и тикарциллину + клавулановой кислотой. Ко всем остальным исследуемым антибиотикам данный штамм бактерий *Salmonella* spp. – чувствительный. Другой штамм *Salmonella* spp., выделенный из воды, чувствительный к мерепенему, ко всем остальным исследуемым антибиотикам резистентен.

Таким образом можно заключить, анализируемые штаммы *E. coli* демонстрируют более высокий уровень резистентности к бета-лактамным антибиотикам по сравнению штаммами *Salmonella* spp.

# ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРОКАПСУЛ С ОБОЛОЧКАМИ СОСТАВА (ПАрг/ДС)3 И (ПАрг/ПГК)3

***О. М. Гурова***
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59;
*olya.gurova18@gmail.com*

В настоящее время важной проблемой, обусловливающей дальнейший прогресс в медицине, биотехнологии и ряде других областей, является создание и изучение систем доставки лекарственных препаратов. В качестве одной из перспективных систем для инкапсуляции биологически активных веществ рассматриваются полиэлектролитные микрокапсулы (ПЭК). Микрокапсулы позволяют избежать деградации активного вещества, обойти ограничения, возникающие при использовании некапсулированных лекарственных форм, и повысить потенциал препарата. Синтез микрокапсул происходит с помощью метода послойной адсорбции полиэлектролитов на матрицах. В роли матриц могут выступать коллоидные частицы с размерами от нескольких нанометров до сотен микрометров. Одними из многообещающих вариантов являются поликристаллические частицы карбоната кальция, имеющие сферическую форму и обладающие пористой внутренней структурой и биосовместимостью, что особенно важно для медико-биологических применений.

Методика послойной адсорбции, в основном, приводит к формированию ПЭК микронных размеров. Для медицинских применений контейнеров их размер должен находиться в субмикронном диапазоне. Перспективной стратегией уменьшения размеров ПЭК является использование термоиндуцированного сжатия их оболочек, при котором меняются физико-химические свойства капсул.

В рамках данного исследования были синтезированы ПЭК из поли-L-аргинина (ПАрг), сульфата декстрана (ДС) и полиглутаминовой кислоты (ПГК). В качестве матриц для синтеза микрокапсул были использованы сферические частицы карбоната кальция. Методом электрофоретического рассеяния было показано успешное формирование оболочек состава (ПАрг/ДС)3 и (ПАрг/ПГК)3. Показано, что при температуре 90°C и длительности воздействия 60 минут для капсул (ПАрг/ДС)3 происходит уменьшение гидродинамического диаметра с 4,7±0,4 мкм до 1,91±0,19 мкм и изменение дзета-потенциала с -14±1 мВ до -30±6 мВ. Для капсул со структурой оболочки (ПАрг/ПГК)3 гидродинамический диаметр уменьшается от 4,5±0,5 мкм до 1,5±0,8 мкм, и значение дзета-потенциала остается неизменным и равным -11±2 мВ.

# ВЛИЯНИЯ ВРЕМЕНИ ХРАНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО УДОБРЕНИЯ НА ОСНОВЕ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ НА ДИНАМИКУ РОСТА БАКТЕРИЙ В ПОЧВЕ

***А. С. Гурьянова***
Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1;
*guranovaalevtina35@gmail.com*

Сегодня одной из самых приоритетных мировых задач является создание и внедрение технологий рационального природопользования. Темой нашего исследования является разработка бактериального удобрения на основе молочной сыворотки. Молочная сыворотка является отходом производства кисломолочных продуктов, а затраты на её очистку и утилизацию являются существенной статьёй расходов молокоперерабатывающих предприятий, поэтому её переработка является перспективным направлением исследований.

Для получения удобрения бактерии *Azotobacter chroococcum* выращиваем на стерильной молочной сыворотке в течение 6 суток. Азотобактеры выделены из местных почв и выращены на жидкой среде Эшби. Конечная концентрация бактерий в удобрении составляет в среднем 106–107 КОЕ/мл. В данном исследовании удобрение хранилось в холодильнике при температуре +4…+5 °С в течение 5 месяцев. Концентрация бактерий, в среднем, за время хранения не изменилась. Затем мы добавляли удобрение к сухой нестерильной почве, до полного увлажнения, в тех же пропорциях для контроля использовались вода и сыворотка. На протяжении 2 месяцев в контейнерах с почвой поддерживалась оптимальная влажность. Количество бактерий в почве определяли методом десятикратных разведений и глубинным посевом на твердую среду Эшби через 10 и через 50 дней после внесения удобрения в почву.

Достоверных различий между количеством бактерий в почвах, обработанных водой, удобрением и сывороткой не выявлено, но по среднему значению наибольшее число колоний азотобактеры дают в почве с удобрением, достигая порядка $10^6$ КОЕ - это минимальное количество бактерий в почве. Поскольку для азотобактеров характерно образование слизей и объединение клеток в группы, мы предполагаем, что 1 КОЕ может содержать от 4 до 10 клеток, объединённых слизистым чехлом. При внесении удобрения количество клеток, участвующих в образовании одной колонии, может быть, намного больше, так как в удобрении клетки находятся в стационарной фазе роста, для которой характерно активное образование слизи и агрегация клеток. Если мы правы, то в реальности число клеток в 1 грамме почвы больше, как минимум, в 10 раз, а фиксация азота эффективнее за счёт образования слизи.

# ВЛИЯНИЕ ПРЕВЕНТИВНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ГИПОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ КАЛЬЦИЕВУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ В ПОЗДНИЕ СРОКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO*

***Е. А. Гусева*, *М. В. Ведунова*, *Т. А. Мищенко***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*eguseva655@gmail.com*

Ранняя детская смертность – серьезная проблема здравоохранения, частой причиной которой является гипоксическое повреждение плода. Кислородная недостаточность в пренатальном онтогенезе нарушает нормальную работу нейрон-глиальных сетей головного мозга, что приводит к серьезным задержкам развития. Углубление знаний о механизмах воздействия хронической гипоксии является важным звеном в разработке новых терапевтических подходов.

Целью работы явилось изучение влияния хронической пренатальной гипоксии на функциональную $Ca^{2+}$ активность нейрон-глиальных сетей первичных культур клеток гиппокампа в условиях нормоксии и при воздействии острого гипоксического стресса.

Беременные самки мышей гибридной линии C57BL/6+C3H подвергали хроническому гипобарическому стрессу с 14 дня гестации. Первичные культуры клеток гиппокампа получали от эмбрионов 19-го дня гестации. На 14 день культивирования *in vitro* (DIV) часть культур подверглась острой нормобарической гипоксии. Спонтанная $Ca^{2+}$ активность первичных культур регистрировалась методом $Ca^{2+}$ имиджинга на 1, 3 и 7 сутки постгипоксического периода.

Хроническая гипоксия приводит к задержке в развитии первичных культур клеток гиппокампа. В период DIV 15 число функционально активных клеток в культуре, а также параметры сетевых характеристик нейрон-глиальных сетей были достоверно снижены относительно значений интактной группы. Низкий уровень корреляционных взаимосвязей между клетками нейрон-глиальных сетей сохранялся до 21 DIV включительно.

Превентивное воздействие хронической гипоксии приводит к изменению ответа нейрон-глиальных сетей на последующий острый стресс. На 7-й день постгипоксического периода (21 DIV) доля функционально активных клеток в культуре была снижена, при отсутствии достоверных различий в частоте и длительности $Ca^{2+}$ колебаний. Сетевые параметры спонтанной $Ca^{2+}$ активности нейрон-глиальных сетей были снижены относительно контрольной группы.

Таким образом, превентивное воздействие хронической пренатальной гипоксии приводит к значимым перестройкам функциональной структуры нейрон-глиальной сети при моделировании острой гипоксии, что указывает на гибель части функционально значимых звеньев сети.

*Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 18-75-10071-П с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Молекулярной биологии и нейрофизиологии» ННГУ им. Н.И. Лобачевского.*

# СОСТОЯНИЕ БЕНТОФАУНЫ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «ОЗЕРО СВЕТЛОЕ»

***К. Е. Гусева***
Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*kristina_guseva_2001@bk.ru*

Памятник природы Республики Марий Эл «Озеро Светлое» находится в Юринском районе Республики Марий Эл. Создан в 1976 году, имеет региональное значение как водный источник с чистой прозрачной водой, живописными берегами, место произрастания редкого водного растения – аира болотного. Озеро является междюнным водоемом с суффозионно-карстовым провалом, площадью 8,0 га. Объект имеет рекреационное значение.

Отбор гидробиологического материала проводился на озере в летний период 2022 года по стандартным методикам. Обработка проведена на кафедре биологии ИЕНиФ МарГУ.

Фауна донных беспозвоночных животных озера Светлое представлена 51 видом, относящихся к 5 типам, 9 классам, 16 отрядам, 33 семействам и 43 родам. Максимальную долю в видовом составе занимает класс Насекомые (54,9%). Представители класса Брюхоногие моллюски составляют 13,7% от общего видового состава. Представители классов Паукообразные и Пиявки – по 7,8%; представители класса Пластинчатожаберные – 5,9%; представители класса Малощетинковые черви – 3,9%; представители классов Ракообразные, Нематоды и Ресничные черви – по 2,0% от общего видового состава.

Класс Насекомые представлен в озере Светлое 28 видами. Из представителей отрядов наибольшую долю составили Стрекозы (32,1%).

Встречаемость характеризует распределение видов по изучаемой территории. Доминантом по встречаемости в озере Светлое является водяной ослик *Asellus aquaticus*, частота встречаемости которого составила 100%.

Средняя численность макрозообентоса озера Светлое составляла 208,9±19,9 экз./м$^2$. Средняя биомасса составляла 5,518±0,79 г/м$^2$. По значению средней биомассы водоем относится к высококормным.

Наибольший вклад в биомассу внесли представители класса Gastropoda, которые составили 34,2% от общей биомассы макрозообентоса в озере Светлое. Наименьшую долю в общей биомассе составили представители класса Nematoda, они составляли всего 0,1% от общей биомассы беспозвоночных озера Светлое.

Наибольший вклад в общую численность внесли представители класса Crustacea, которые составили 18,8% от общей численности беспозвоночных животных озера Светлое. Наименьшую долю в общей численности имели представители отряда Вислокрылки, они составили всего 0,5% от общей численности беспозвоночных животных озера Светлое.

Таким образом, видовое богатство макрозообентоса памятника природы РМЭ «Озеро Светлое» высокое, сообщество макрозообентоса устойчивое, сбалансированное индекс Шеннона по численности составляет 3,26±014 бит/экз. Индекс Пантле-Букка в озере Светлое равен 2,68, что позволяет сказать, что в озере α-мезосапробные воды.

*Работа проведена по х/д № 416 «Изучение биологического разнообразия на ООПТ» с Министерством природных ресурсов, экологии и охраны окружающей среды Республики Марий Эл.*

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛОВОГО ДИМОРФИЗМА В РЕПЛИКАТИВНОЙ МОДЕЛИ СТАРЕНИЯ ГЛИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР

***Д. И. Давыдов*[1, 2], *Е. В. Козляева*[1], *Я. В. Чернов*[1], *Н. А. Щелчкова*[1], *С. А. Коротченко*[1], *В. И. Першин*[1], *А. С. Пимашкин*[2], *О. М. Широкова*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1; *ddavydov.science@gmail.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Прогнозируется, что разница в течении и прогрессе определенных возрастных заболеваний у разных полов являются следствием влияния гормонов половых желез. Целью исследования является определение различий метаболической активности глиальных клеток в культурах в репликативной модели *in vitro* вызванных влиянием половых гормонов.

Материалами для исследований выступили первичные культуры глиальных клеток, полученные из новорожденных мышей линий C57BL/6j. Жизнеспособность клеток определялась путем окрашивания Propidium iodide и Hoechst 33258. Спонтанная кальциевая активность регистрировалась с помощью предварительного использования красителя Fluo-4-AM (Thermo Fischer, США). С помощью метода иммунноферментного анализа (ИФА) были изучены клетки 10-го пассажа и надосадочная жидкость, взятая после 2-го, 3-го, 5-го, 7-го и 10-го пассажей. Количественно было определено содержание эстрадиола (Cloud-clone Corp, CEA461Ge); BDNF (SEA011Mu); энолазы, специфичной для нейронов NSE(SEA537Mu); $Ca^{2+}$-связывающего белка, в основном экспрессируемого астроцитами (S100, SEA012Mu).

В результате исследований, обнаружены следующие статистически значимые различия у глиальных клеток между генотипами в аспекте жизнеспособности, в XX-генотипе данный показатель оказался выше в 5 и 8 пассажах. Были обнаружены различия в длительности кальциевых осцилляций между полами в 8-м и 9-м пассажах. Также общая длительность кальциевых волн у XX-генотипа выше, чем у XY-генотипа. В частоте осцилляций статистически значимые различия обнаружены в 8-м пассаже. Методом ИФА было установлено закономерное повышенное количество эстрадиола у XX-генотипа. Однако, снижение эстрадиола у обоих генотипов наблюдается в кондиционной среде. У культуры XX-генотипа содержание эстрадиола сильно изменяется от 2 к 10 пассажу, у XY-генотипа подобного не наблюдается. В глиальных культурах фиксируется незначительная разница BDNF в зависимости от генотипа. Содержание белка S100 не имеет статистически значимого различия в зависимости от генотипа. Концентрация NSE у глиальных культур XX-генотипа более высокая, однако, в кондиционной среде уровень белка NSE падает при старении. Следовательно, полученные данные свидетельствует о перспективности дальнейшего изучения полового диморфизма глиальных культур.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 22-15-20043.*

# ОЦЕНКА УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ CPG-ДИНУКЛЕОТИДОВ У ЖИТЕЛЕЙ НИЖНЕГО НОВГОРОДА И ЯКУТИИ

***Е. А. Давыдова*, Т. В. Тулупова, А. Д. Перенков, И. И. Юсипов, М. В. Ведунова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*spring_dusk@mail.ru*

В настоящее время наиболее перспективным методом оценки биологического возраста считаются эпигенетические часы. Такие часы основаны на определении степени метилирования набора CpG-динуклеотидов, профиль метилирования которых зависит от возраста. Большую популярность для создания эпигенетических часов получило использование технологии полногеномного анализа метилирования на метилочипах (“Illumina”, США), однако высокая стоимость технологии сильно ограничивает её применение. Поэтому важно развивать более экономичные подходы, основанные на оценке метилирования небольшого количества наиболее значимых CpG-динуклеотидов. Кроме того, интерес представляет влияние факторов окружающей среды на эпигеном и биологический возраст. Целью данной работы явилось определение степени метилирования некоторых возраст-зависимых CpG-динуклеотидов у жителей Нижнего Новгорода и Якутии.

Определение степени метилирования CpG-динуклеотидов проводили в группах жителей Нижнего Новгорода (n=50) и Якутии (n=19), в которые вошли условно здоровые добровольцы в возрасте от 20 до 88 лет. Материалом для исследования явились образцы цельной венозной крови.

Геномную ДНК экстрагировали из клеток периферической крови с использованием набора GeneJET (Thermo Fisher Scientific, США). Затем выделенную ДНК подвергали бисульфитной конверсии с использованием набора EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, США). Оценку метилирования проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием системы MassARRAY (iPLEX assay, Agena Bioscience, США).

Для анализа было отобрано одиннадцать наиболее коррелирующих с возрастом CpG-динуклеотидов. Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью среды R (4.0.4). Статистически значимыми считались различия при $p<0,05$.

В группах жителей Нижнего Новгорода и Якутии была выявлена достоверная корреляционная связь между уровнем метилирования и возрастом для следующих CpG-динуклеотидов: cg08262002 (r = -0,36 и -0,59 соответственно), cg11649376 (r = -0,47 и -0,79), cg16008966 (r = -0,37 и -0,6), cg06639320 (r = 0,64 и 0,94), cg22454769 (r = 0,62 и 0,61), cg23500537 (r = 0,66 и 0,46), cg07553761 (0,86 и 0,6). Для CpG cg01620164 и cg14556683 статистически значимой корреляции в исследуемых группах обнаружено не было, а для CpG cg00481951 и cg07547549 связь обнаружена только у жителей Якутии (r = 0,78 и 0,48). Общий уровень метилирования в исследуемых группах статистически значимо не различался и составил 43,15% (27,02;54,24) для жителей Нижнего Новгорода и 46,50% (24,79;57,98) для жителей Якутии. Были обнаружены статистически значимые различия степени метилирования между группами для CpG cg07547549, cg08262002, cg14556683 и cg22454769. Степень метилирования остальных CpG-динуклеотидов достоверно не различалась.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FSWR-2023-0032).*

# РОЛЬ НЕЙРОТРИПСИНА В ВЫРАБОТКЕ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА ЗАМИРАНИЯ У ЮВЕНАЛЬНЫХ МЫШЕЙ

***Н. Н. Давыдова*[1], *А. А. Миронов*[2, 3]**

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *nataly-ruso@yandex.ru*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1

[3]Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen

Нейротрипсин (NT) представляет собой нейрональную трипсиноподобную сериновую протеазу, мутации которой вызывают тяжелую умственную отсталость у людей. Многочисленные исследования показали роль внеклеточных протеаз в синаптической пластичности, обучении и памяти. Было признано, что нейротрипсин, нейрональная трипсиноподобная сериновая протеаза, играет важную роль в когнитивной функции мозга. Целью данной работы является исследование функциональной важности этого механизма для синаптической пластичности, обучения и угасания памяти.

В качестве объектов исследования использовались мыши, у которых отсутствуют экзоны 10 и 11 из гена NT (NT-/-) и их однопометники дикого типа (NT+/+) ювенильного и зрелого возраста. Статистический анализ результатов поведенческих тестов у молодых и зрелых мышей проводили с помощью SigmaPlot 13.0. Классический протокол (без интервалов) условной реакции пассивного избегания (УРПИ) проводили со следующими модификациями. В течение тренировочного дня мыши испытывали CC- и CC+ в течение 5 минут единократно. Интервал между CC- и CC+ составлял 2 ч. Электрокожное раздражение 0,6 мА длительностью 1 с проводили при CC + через 120, 180 и 240 с. после размещения животного в камере выработки условного рефлекса. Анализ реакции замирания позволил нам измерить способность мышей различать оба контекста.

Было продемонстрировано, что дефицит нейротрипсина не влиял на степень реакции спонтанного замирания в нулевой день (тренировка) ни в положительном, ни в отрицательном контексте (P генотип = 0,405, F (1,21) = 0,720; P генотип x контекстозависимый = 0,417, F (1,20) = 0,688). Этот уровень замирания, продемонстрированный ювенильными мышами перед УРПИ, был типичным для исследования новых контекстуальных условий у мышей. Кроме того, уровни замирания сразу после безусловных стимулов не различались между генотипами (P генотип = 0,359, F (1,21) = 0,880, P генотип x стимул = 0,250, F (5,105) = 1,347).

Прямое сравнение фенотипов ювенильных и пожилых NT-/-мышей также выявило несколько различий в их характеристиках: 1) в обусловливании страха, которое было нарушено у ювенильных мышей, но было нормальным у пожилых; 2) в исчезновении страха, которое было нормальным у ювенильных и нарушенным у пожилых мышей; и 3)в новом тесте на распознавание объектов результаты, которые также были нормальными у юных и нарушенными у пожилых мышей. Таким образом, дефицит нецротрипсина демонстрирует сложную картину взаимодействия с возрастом, поэтому некоторые дефекты могут быть компенсированы у молодых мышей, но становятся заметными с возрастом. Следует отметить, что механизмы нейропластичности могут претерпевать глубокие изменения в процессе старения организма.

# АПТАМЕРЫ, СПЕЦИФИЧНЫЕ К EGFR, КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ И АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА

***Ф. М. Дзариева*[1], *Л. В. Фаб*[1], *А. И. Алексеева*[1, 2], *А. В. Головин*[3, 4], *Г. В. Павлова*[1, 4, 5]**

[1]Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 117485, Москва, ул. Бутлерова, 5А; *dz.fatima@mail.ru*

[2]НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», 117418, Москва, ул. Цюрупы, 3

[3]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1

[4]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

[5]НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, 125047, Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, 16

Мультиформная глиобластома (ГБ) - наиболее распространённое и злокачественное внутричерепное новообразование головного мозга. Высокий уровень устойчивости к терапии и злокачественности ГБ имеет положительную ассоциацию с мутантной изоформой рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) – EGFRvIII. При этом благодаря тому, что EGFRvIII специфически экспрессируется в опухолевых клетках, он является отличной мишенью для терапии ГБ.

На сегодняшний день химио- и радиотерапия пациентов с диагностированной глиобластомой не дает существенных результатов, единственный метод лечения – хирургическое удаление опухоли. Но данный метод также остается малоэффективным, так как клетки глиобластомы инвазируются в здоровую ткань, в следствие чего после удаления опухоли остаточные клетки приводят к образованиям вторичных опухолей. Следовательно, остро стоит вопрос не только об улучшении методов терапии, но и ясна необходимость в улучшении визуализации клеток глиобластомы.

В рамках данной работы мы оценивали эффективность связывания ДНК-аптамеров U2 и Gol1, специфичных к EGFR и EGFRvIII, с молекулами-мишенями, а также их антипролиферативный потенциал для клеток глиобластомы человека.

Для исследований была отобрана культура ГБ человека – G01, которая относится к Grade IV и фенотипу IDH-, что относит эту культуру к классу высочайшей степени агрессивности. В результате трансфекции были получены G01-EGFRvIII клетки, которые при дальнейшем апто- и иммуноцитохимическом окрашивании продемонстрировали более высокую конкурентоспособность связывания с EGFRvIII аптамера Gol1 по сравнению с U2 и моноклональными антителами к EGFRvIII.

Был проведен анализ накопления аптамера Gol1, меченного FAM в тканевой модели глиобластомы крысы 101/8. Результаты эксперимента продемонстрировали накопление аптамера Gol1 в тканях опухоли 101/8.

Параллельно была проведена оценка антипролиферативных свойств аптамеров U2 и Gol1 на клетках культуры глиобластомы человека G01 при использовании MTS-теста и клеточного анализатора в реальном времени xCELLigence. По результатам MTS-теста на клетках глиобластомы был продемонстрирован антипролиферативный эффект аптамеров U2 и Gol1 в трех разных концентрациях (5,10 и 20 мкМ), при этом аптамер Gol1 показывает более выраженный антипролиферативный эффект в меньших концентрациях. Результаты исследования при использовании xCELLigence подтверждают результаты MTS-теста.

Таким образом, в рамках данной работы был продемонстрирован потенциал ДНК-аптамеров U2 и Gol1 в дальнейшей терапии и визуализации глиобластомы человека.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075–15-2020-809, вн. номер 13.1902.21.0030).*

# ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ НЕЙРОПАТИЧЕСКОМ БОЛЕВОМ СИНДРОМЕ

***Н. В. Диденко*[1], *А. Г. Соловьева*[1, 2], *К. Л. Беляева*[1], *А. Г. Полякова*[1], *Е. В. Красильникова*[2]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *Natalika-nv@mail.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Синдром нейропатической боли (НБС) сопряжен со значительным снижением качества жизни больного, в связи с дегенеративно-дистрофическими изменениями нервов, а также интенсификацией свободно-радикального окисления (СРО). Неинвазивное использование инфракрасного излучения (ИКИ) способствует стимуляции ангиогенеза, повышению трофики поврежденных нервов и росту уровня кислорода в организме в целом, поэтому целесообразно использовать данный вид излучения для сохранения окислительно-восстановительного баланса в крови пациентов с НБС.

Цель исследования: оценить эффективность терапии ИКИ на антиоксидантный статус крови крыс при экспериментальном НБС на 10 сутки после травмы.

Эксперименты проводили на крысах линии Wistar массой 300 гр. в соответствии с этическими нормами и правилами GLP. Животные (n = 40) были разделены на 4 группы: 1 – норма, 2 группа – контроль, 3 и 4 группа – опытные. Крысам 2, 3 и 4 группы под наркозом моделировали НБС путем лигирования седалищного нерва. Животным 3 и 4 групп ежедневно оказывалось воздействие в импульсном режиме ИКИ (810 нм) с помощью сертифицированного матричного аппарата «Elmedlife M» (Россия). В 3 опытной группе облучалась зона поражения седалищного нерва, в 4 группе – зона затылочного бугра, а уже затем зона поражения седалищного нерва (время каждой из процедур 10 минут). Кровь животных забирали спустя 10 суток путем декапитации под наркозом. Активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КТ), глутатионредуктазы (ГР) в гемолизате отмытых эритроцитов, а также уровень диеновых (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) в плазме крови оценивали методом спектрофотомерии. Для сравнения использовались методы непараметрического анализа.

В результате исследования выявлено, что у крыс с НБС снижен уровень активности антиоксидантных ферментов: СОД на 6,37% ($p = 0,024$), КТ на 9,25% ($p = 0,002$), ГР на 9,33% ($p = 0,004$) и статистически значимо повышен уровень продуктов СРО (ДК на 13,08%, ТК на 17,75%, ОШ на 17,05%) по сравнению с нормой. Воздействие ИКИ непосредственно на область поражения нерва приводило к росту активности ферментов антиоксидантной защиты в крови крыс с НБС – СОД на 9,42% ($p = 0,004$), КТ на 5,68% ($p = 0,040$), ГР на 11,25% ($p = 0,005$), а так же статистически значимому снижению: ДК на 2,42%, ТК на 8,01%, ОШ на 11,17% по сравнению с контролем. Комбинированное ИКИ вызывало в 4 группе крыс нормализацию уровня всех исследуемых показателей.

Полученные результаты показали эффективность терапии ИКИ у крыс с НБС для коррекции СРО, возникающего в следствии нейродегенеративных процессов. ИКИ способствовало нормализации всех исследуемых показателей, что свидетельствовало о повышении антиоксидантного статуса крови крыс с НБС, а также о снижении гипоксии в организме крыс опытных групп в целом.

# РОЛЬ КАЛЬЦИЕВОГО СИГНАЛИНГА ВО ВЛИЯНИИ ЗАСОЛЕНИЯ НА ФОТОСИНТЕЗ И ЦИТОЗОЛЬНЫЙ pH У КАРТОФЕЛЯ

***А. А. Димитриева*, А. А. Брилкина, В. А. Воденеев, А. А. Печёрина**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*super.criss18@yandex.ru*

Засоление почв – одна из актуальных проблем сельского хозяйства, из-за которой снижается урожайность растений. В последнее десятилетие активно изучаются механизмы рецепции и активации сигнальных систем как осмотической, так и ионной компонентами солевого стресса, так как обе компоненты оказывают влияние на различные физиологические процессы в растениях. Предположительно, ключевым звеном сигналинга является $Ca^{2+}$-сигнальная система; промежуточным звеном между ней и изменением физиологических показателей может выступать протонная сигнальная система, так как существует множество свидетельств как о взаимосвязи этих двух сигнальных систем, так и о влиянии цитозольного pH на многие физиологические процессы, включая фотосинтез. Целью данной работы было исследование роли кальциевого сигналинга в изменении фотосинтеза и цитозольного pH при засолении.

Влияние засоления определяли на пятинедельных микрорастениях картофеля (*S. tuberosum*) с pH-чувствительным флуоресцентным сенсором Pt-GFP; в некоторых из этих растений ингибировали работу кальциевых каналов путем инкубации корней в растворе $LaCl_3$ для того, чтобы определить роль кальция в передаче сигнала о засолении. Первым этапом работы было определение эффективной концентрации ингибитора. Для этого растения инкубировали в различных концентрациях $LaCl_3$ (0; 0,1; 0,5; 1; 5 и 10 мМ) и оценивали его влияние на фотосинтез в течение 24 часов с помощью установки PlantExplorerPro+ (PhenoVation, Нидерланды), с помощью которой регистрировали следующие показатели фотосинтеза: эффективный квантовый выход фотосистемы II ($Ф_{PSII}$), максимальный квантовый выход фотосистемы II в адаптированном к темноте состоянии ($F_v/F_m$) и нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ). В результате подбора концентрация $LaCl_3$ с наименьшим влиянием на фотосинтез в течение всего времени наблюдения оказалась равна 1мМ; показатель NPQ был самым чувствительный к добавлению ингибитора.

Далее проводили оценку влияния засоления на активность фотосинтеза и уровень цитозольного pH. К корням необработанных и обработанных ингибитором растений добавляли 200 мМ NaCl и измеряли параметры $Ф_{PSII}$, Fv/Fm, NPQ и флуоресценцию Pt-GFP в PlantExplorerPro+ в течение 8 часов после добавления соли. Засоление приводило к закислению цитозоля в листьях и стебле, а также вызывало снижение $Ф_{PSII}$ и повышение NPQ в листьях - через 4 и 2 часа после начала засоления соответственно. $F_v/F_m$ не изменялся при засолении, следовательно, не нарушалась целостность фотосистемы II. Обработка ингибитором вызывала запаздывание на 2 часа распространения изменения pH, но не влияла на уровень и временную динамику параметров фотосинтеза при засолении.

Полученные результаты указывают на вклад кальциевого сигнала в изменение цитозольного pH, но не параметров фотосинтеза при больших временах наблюдения.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-14-00388.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНГАЛЯЦИЙ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА ЭНДОТЕЛИЙ КРЫС С МОДЕЛИРОВАННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

***Ю. А. Дойникова*, Д. А. Данилова, А. В. Дерюгина**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*yuliadoynikova2001@gmail.com*

Сердечная недостаточность (СН) представляет собой сложный клинический синдром, состоящий из симптомов и признаков, которые предполагают ухудшение состояния сердца, поддерживающего физиологическую циркуляцию. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) - патофизиологический синдром с эпизодическим, чаще постепенным усилением признаков СН. Это прогрессирующий синдром, без лечения которого в половине случаев наблюдается летальный исход. Несмотря на существующую медицинскую терапию, заболеваемость и смертность остаются высокими. В качестве нового эффективного метода лечения ХСН может быть использован молекулярный водород, который обладает различными терапевтическими свойствами. Цель работы - исследовать влияние ингаляций молекулярного водорода на эндотелий крыс с моделированной хронической сердечной недостаточностью.

Исследование проводилось на (n=30) белых крысах самцах линии Wistar массой 270±20 г. Моделирование ХСН производилось 3-кратным, через 48 часов, внутрибрюшинном введением адреналина гидрохлорида 0,3 мг/кг массы тела. Животные были разделены на 3 группы: 1-я группа исследования (n=10) через 1 сутки после последнего введения адреналина получала ингаляции 2% $H_2$ по 40 минут ежедневно в течение 5 суток; 2-я группа исследования (n=10) получала ингаляции $H_2$ 40 минут однократно (через сутки после моделирования ХСН); 3-я группа (контроль) не получала ингаляции $H_2$. Забор крови производили из подъязычной вены до и сразу после моделирования ХСН, на 1, 3, 7 и 14 сутки после моделирования ХСН.

Изменения количества эндотелиоцитов проводили с помощью метода морфологической идентификации ЦЭК. Метод основан на изоляции десквамированных эндотелиоцитов вместе с тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов адреналином. Выделенные эндотелиоциты подсчитывали в счётной камере с помощью с помощью светового микроскопа после предварительной окраски клеток красителем. Уровень физиологической нормы определяли у интактных животных.

В результате исследования при использовании $H_2$ наблюдалось уменьшение количества ЦЭК, что свидетельствует о снижении повреждения клеток эндотелия. Как следствие, благодаря восстановлению целостности эндотелиальной прослойки, улучшается транскапиллярный обмен посредством комбинации трансцеллюлярных или парацеллюлярных путей. Минимальный уровень ЦЭК регистрировался при многократном использовании $H_2$ на 14 сутки после моделирования ХСН.

Таким образом, использование ингаляций 2% $H_2$ способствует ослаблению окислительного стресса, что положительно влияет на целостность сосудов и сохраняет клетки эндотелия от действия агрессивных радикалов. Антиоксидантные эффекты $H_2$ уменьшают повреждение миокарда и снижают выраженность эндотелиальной дисфункции при ХСН.

# ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА АМПЛИФИКАЦИЙ ГЕНОВ СТВОЛОВОСТИ НА УРОВЕНЬ ИХ ЭКСПРЕССИИ И СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ И В ОПУХОЛИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

***Д. С. Долгашева*[1], *И. А. Цыденова*[1], *К. А. Гаптулбарова*[1], *Е. А. Кравцова*[1], *К. В. Невская*[2], *А. Г. Першина*[2], *Н. В. Литвяков*[1]**

[1]НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, 634050, Томск, Набережная реки Ушайки, 10;
*normikus.18.97@gmail.com*
[2]Центр биологических исследований и биоинженерии ЦНИЛ СибГМУ, 634050, Томск, Московский тракт 2/18

Метастатическая болезнь является основной причиной смерти онкологических больных, тем не менее, она по-прежнему мало изучена. В связи с этим в последние годы появляется все больше работ, связанных с исследованием различных механизмов метастазирования. Наиболее интересным механизмом является приобретение опухолевыми клетками способности к дедифференцировке за счет индукции эктопической экспрессии генов стволовости.

Цель работы – изучение влияния количества амплификаций генов стволовости на субпопуляционный состав стандартных клеточных линий рака молочной железы, а также зависимости уровня экспрессии генов стволовости от количества амплификаций в клеточных линиях и опухоли больных раком молочной железы.

В исследование было включено 39 больных раком молочной железы и клеточные линии рака молочной железы: BT549, MDA-MB-231, MCF7, T47D и BT474. Клетки стабильных клеточных линий рака молочной железы культивировали в стандартных условиях. Оценка экспрессии генов стволовости в опухоли до лечения и клеточных линиях проводились на микрочипах CytoScan™ HD Array и Clariom™ S Assay. Амплификации генов стволовости изучали при помощи микроматриц CytoScan HD Array. Субпопуляционный состав исследуемых линий изучали методом проточной цитометрии с антителами к CD44 и CD24.

У пациентов в опухоли до лечения, согласно F-test, статистически значимо изменялась экспрессия 18 генов стволовости. Корреляционный анализ уровня экспрессии генов стволовости с количеством амплификаций в опухоли показал статистически значимую положительную корреляцию с числом амплификаций для 9 генов (FZD9, CDK6, PIM1, SOX8, TERT, CCNF, KLF5, TGFBR1, SOX4) с R от 0.31-0.66, на уровне тенденции ($p<0.1$) еще для NOTCH1 и TGFB1. Для клеточных линий также отмечается повышение уровня экспрессии с увеличением числа амплифицированных генов стволовости. В линиях BT474 и MDA-MD-468 обнаружено наибольшее количество амплификаций и высокая экспрессия генов стволовости. Показано, что с увеличением количества амплификаций генов стволовости увеличивается частота более дифференцированных субпопуляций и степень их дифференцировки в ряду от стволовых CD44+CD24- клеток к дифференцированным CD44-CD24-.

Таким образом, было установлено, что количество амплификаций генов стволовости оказывает влияние на субпопуляционный состав клеточных линий и экспрессию генов стволовости в клеточных линиях и в опухоли больных раком молочной железы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-15-00243).*

# СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИСТЬЯХ ПОДОРОЖНИКА БОЛЬШОГО

***А. В. Дрангой*, *О. Л. Воскресенская***
Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*ichigo.lotos@mail.ru*

Аскорбиновая кислота важнейший природный антиоксидант. Принимает участие в большинстве процессов жизнедеятельности растений: рост, цветение, в водном обмене, регуляции ферментативной активности, стимуляции реакций метаболизма, в защитных реакциях растений. Количество аскорбиновой кислоты в растениях постепенно увеличивается по мере роста и развития растения, достигая максимума в период подготовки к цветению. Содержание аскорбиновой кислоты в растениях является важнейшим показателем, который характеризует адаптационные способности растений в изменяющихся условиях среды. На скорость синтеза и сохранность аскорбиновой кислоты в растениях влияют оптимальная обеспеченность светом, водой, минеральными и органическими питательными веществами.

Подорожник большой (*Plantago major*) – многолетнее травянистое растение семейства подорожниковых, одно из известных лекарственных растений.

Материал для исследований был собран на территории Республики Марий Эл (в г. Йошкар-Ола и пгт. Советский) и Ханты-Мансийского Автономного Округа (г. Лангепас).

Количественное определение содержания аскорбиновой кислоты проводили титриметрическим методом, титрантом выступал 2,6-дихлоринофелят натрия. Полученные результаты обработаны статистически с помощью программы STATISTICA.

Содержание аскорбиновой кислоты в листьях подорожника большого в зависимости от района произрастания составляло от 60,7 до 222,1 мг/100г.

Наиболее высокое количество аскорбиновой кислоты было обнаружено у растения, произрастающего на территории пгт. Советский – 222,1 мг/100 г. В листьях растения, растущего в г. Йошкар-Ола, было обнаружено в 1,2 раза меньше аскорбиновой кислоты – 179,2 мг/100 г. Меньше всего витамина С содержалось у растения в г. Лангепас. По сравнению с растением, произрастающим на территории пгт. Советский это значение было меньше в 3,6 раза, а по сравнению с растением в г. Йошкар-Ола в 2,9 и составляло 60,7 мг/100г.

Однофакторный дисперсионный анализ выявил, что содержание аскорбиновой кислоты находится в прямой зависимости от района исследования ($p=0,00952$).

Результаты исследований показывают, что содержание аскорбиновой кислоты в листьях подорожника большого сильно различаются между регионами. Высокое количество витамина С в растениях, произрастающих на территориях г. Йошкар-Ола и пгт. Советский свидетельствует о более благоприятных условиях произрастания. На низкое содержание витамина С в листьях подорожника большого, растущего в г. Лангепас, значительно влияют климатические условия, а также короткий вегетационный период. Продолжительность вегетационного периода в г. Йошкар-Ола и пгт. Советский составляет около 145 дней, со средней температурой больше 18°С. В г. Лангепас вегетационный период около 115 дней, со средней температурой выше 15°С.

# ИНИЦИИРОВАННЫЙ ПЕРОКСИДНЫЙ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ В КАЧЕСТВЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

***Н. А. Дубенская*[1], *Е. М. Соколова*[2], *Б. Л. Психа*[2], *Н. И. Нешев*[2]**

[1]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1; *Cyber-shop@mail.ru*

[2]ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН, 142432, Черноголовка Московской обл., просп. акад. Семенова, 1

При нарушении работы антиоксидантной системы в клетках возрастает количество активных метаболитов кислорода, которые вызывают разнообразные оксидативные повреждения, приводящие клетку к окислительному стрессу, наиболее опасным проявлением которого является пероксидное окисление липидов (ПОЛ) мембран. Важное значение придается разработке биологических моделей, на которых осуществляется эффективное тестирование химических соединений на антиоксидантную активность. Эффективность разрабатываемой модели в первую очередь определятся качеством инициирования ПОЛ в биологическом субстрате.

Работа посвящена исследованию пероксидного гемолиза эритроцитов под действием двух инициаторов пероксидного окисления липидов, 2,2'-азобис (2-амидинопропан) дигидрохлорид (ААРН), относящийся к классу диазосоединений, и трет-бутилгидропероксид (t-BuOOH), из класса органических пероксидов.

Нами установлено, что под действием исследуемых инициаторов в мембране эритроцитов увеличивается содержание ТБК-реактивных продуктов (продуктов пероксидного окисления липидов) и наблюдается гемолиз эритроцитов, что согласуется с имеющимися литературными данными. В то же время кинетические закономерности гемолиза под действием данных соединений существенно различались.

В широком диапазоне концентраций была исследована кинетика гемолиза 0,2%-ной суспензии эритроцитов мыши под действием ААРН и t-BuOOH. В качестве количественной характеристики гемолитической активности эффектора использовали время достижения 10% степени гемолиза – период индукции гемолиза, который определяли графически. В случае ААРН период индукции гемолиза зависел от начальной концентрации инициатора линейно, тогда как аналогичная зависимость для t-BuOOH была существенно нелинейной и хорошо аппроксимировалась биэкспоненциальной функцией. Это может указывать на присутствие в системе факторов или процессов, влияющих на развитие гемолитического процесса противоположным образом, что может приводить к уменьшению гемолитического отклика системы на воздействие с ростом концентрации инициатора.

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что оба изученных нами соединения способны активировать ПОЛ эритроцитарной мембраны. Линейное изменение периода индукции гемолиза подтверждает представления об ААРН как о мономолекулярном генераторе пероксидных радикалов в водной среде. Вместе с тем исследование кинетики гемолиза эритроцитов показывает, что взаимодействие t-BuOOH с клеткой может включать процессы, не ограничивающиеся пероксидацией липидного субстрата. Это обстоятельство следует учитывать при возможном практическом использовании t-BuOOH в качестве инициатора ПОЛ в модели пероксидного гемолиза.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания № АААА-А19-119071890015-6.*

# СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА КОРОВ ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ И ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

***А. А. Дунаевская*[1], *А. В. Дерюгина*[2], *М. Н. Иващенко*[1, 2], *М. Н. Таламанова*[2]**

[1]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *nastya1201@bk.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Продолжительное воздействие технологического стресса приводит к снижению иммунологической реактивности и резистентности организма. Для коррекции стресса у животных, актуальным является поиск методов, являющихся экологически безопасными, благотворно влияющими на метаболические процессы в организме. В последнее время для коррекции неспецифической резистентности организма стало применяться низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ).

Цель исследования – изучение влияния НИЛИ на неспецифическую резистентность коров. Исследования проведены на клинически здоровых коровах черно-пестрой породы, которые были разделены на четыре группы: I группа — интактные животные; II группа, животные после технологического стресса; животным III и IV групп после технологического стресса проводили лазеротерапию. Для этого использовали автономный лазерный душ «МарсИК» с длиной волны 830 нм. Для облучения выбрана область ушной раковины, длительность процедуры 5 мин (III группа) или 15 мин (IV группа). Курс лазеротерапии проводили однократно, ежедневно в течение 7 дней. Воздействующими стресс-факторами были плановые зооветеринарные мероприятия. Анализ показателей неспецифической резистентности крови проводился на 1, 3, 5, 14 сутки после первого воздействия НИЛИ, определяли бактерицидную (БАСК), лизоцимную (ЛАСК) активность сыворотки крови. Оценку достоверности полученных данных проводили по критерию Стьюдента.

Установлено, что технологический стресс вызывает неоднозначное изменение показателей естественной резистентности. У животных после стресса снизилась БАСК относительно интактной группы животных на 1-5 сутки исследования в среднем на 13% ($p \leq 0,05$). После воздействия НИЛИ БАСК была ниже относительно интактной группы, в III группе это показатель быль ниже на 1-5 сутки исследования в среднем на 9% ($p \leq 0,05$), в IV группе на 1-3 сутки исследования в среднем на 7% ($p \leq 0,05$). При воздействии НИЛИ в течение 15 мин к 5 суткам эксперимента БАСК увеличилась и достигла показателей интактной группы. ЛАСК у животных II группы на протяжении 1-5 суток исследования оставалась повышенной. Воздействие НИЛИ обеспечило достоверное повышение ЛАСК. Максимальные показатели ЛАСК отмечены при лазеротерапии в течение 15 минут.

В результате проведенных исследований установлено, что технологический стресс приводит к повышенному метаболическому напряжению в организме животных, что в свою очередь снижает резистентность организма. Применение НИЛИ способствует повышению БАСК и ЛАСК, что подтверждает участие НИЛИ в механизмах неспецифического иммунитета.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00311.*

# ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В УРОВНЕ И МЕТАБОЛИЗМЕ СЕРОТОНИНА В МОЗГЕ САМЦОВ И САМОК РЫБ *NOTHOBRANCHIUS FURZERI* – МОДЕЛИ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ

***В. С. Евсюкова*[1, 2], *А. Б. Арефьева*[1], *И. Е. Сорокин*[1], *А. В. Куликов*[1, 2]**

[1]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10; *v.s.evsiukova@gmail.com*

[2]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

Рыбы *Nothobranchius furzeri* (turquoise killifish) являются популярным лабораторным организмом в нейробиологии старения. Рыбы готовы к размножению уже в возрасте 3–4 недель, возрасте 6–8 месяцев демонстрируют морфологические и поведенческие признаки старения. Семимесячные *N. furzeri* соответствуют 24-месячным крысам и мышам и являются подходящим модельным организмом для изучения возрастных изменений.

Серотониновая (5-НТ) система головного мозга играет ключевую роль в регуляции многочисленных физиологических функций и различных видов поведения. Анатомическая, клеточная и нейрохимическая организация 5-НТ-системы у рыб гомологична таковой у млекопитающих. Однако, имеются некоторые различия в её молекулярной организации у *N. furzeri*, а именно, в мозге этих рыб экспрессируются три разных гена, Tph1a, Tph1b и Tph2, кодирующие три разные триптофангидроксилазы (TPH1A, TPH1B, TPH2), и единственный ген Mao, кодирующий единственную моноаминоксидазу (МАО). Недавно были показаны резкие возрастные изменения экспрессии основных генов, кодирующих TPH1b, TPH2 и МАО, в мозге *N. furzeri*. Однако, экспрессия гена является скорее косвенным индикатором функциональной активности нейротрансмиссии 5-НТ. Поэтому, целью настоящего исследования было изучение возрастных изменений прямых молекулярных показателей функциональной активности 5-НТ-системы головного мозга: уровней 5-НТ, его метаболита, 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-HIAA), отношения 5-HIAA/5-НТ, активности ТРН и МАО в головном мозге молодых (2 месяца), зрелых (4 месяца) и старых (7 месяцев) самцов и самок *N. furzeri*.

Исследования проводились на 24 самцах и 24 самках *N. furzeri* линии ZMZ1001. Определение уровней 5-НТ и 5-HIAA в образцах тканей головного мозга, а также определение активности ТРН и МАО, производилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Количественное определение белка проводилось по методу Брэдфорда. Статистическая значимость результатов была установлена на уровне $p<0,05$.

Было выявлено выраженное влияние возраста на массу тела, уровень 5-НТ, а также активность ТРН и МАО. Уровень 5-НТ был снижен в головном мозге 7-месячных самцов и самок по сравнению с 2-месячными. Показано достоверное снижение активности ТРН и повышение активности МАО в головном мозге 7-месячных самок по сравнению с 2-месячными самками. Эти данные согласуются с возрастными изменениями экспрессии генов, кодирующих ТРН и МАО и имеют поразительное сходство с возрастными изменениями активности TPH2 и MAOA в мозге крыс, обезьян и человека. Таким образом, наблюдаемые возрастные изменения отражают фундаментальные изменения в 5-НТ-системе позвоночных при старении.

*Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-15-00035).*

# АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ CLOCK С ЦИРКАДНЫМИ ФЕНОТИПАМИ И РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОЖИРЕНИЯ

***Э. С. Егорова, К. К. Асеян, Э. Р. Бикбова, Е. В. Валеева, И. И. Ахметов***
Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49;
*jastspring@yandex.ru*

Известно, что циркадные ритмы принимают участие в регуляции углеводного и липидного метаболизма. Было показано, что функциональные варианты генов, регулирующих циркадные ритмы, могут оказывать влияние на риск развития ожирения. Так, предыдущими исследованиями было продемонстрировано, что полиморфизм rs1801260 гена CLOCK (circadian locomotor output cycles kaput), являющегося одним из важных регуляторов циркадных ритмов, ассоциируется с высоким значением индекса массы тела (ИМТ) (Molina-Montes et al, 2022), а также хронотипом и хронопитанием (Rahati et al, 2022).

Цель работы – выявление ассоциации полиморфизма rs1801260 гена CLOCK с циркадными фенотипами и составом тела у студентов.

В исследовании приняли участие 167 студентов Казанского медицинского университета (19 мужчин, 148 женщин, ср. возраст 20,9±1,4 года). Участники исследования заполняли опросник Хорна-Остберга для определения хронотипа, опросник образа жизни, физической активности и питания. Состав массы тела исследовали с помощью анализатора состава тела Tanita MC-780MA-N. Для генетического анализа проводили забор буккального эпителия. ДНК выделяли сорбентом методом с помощью набора для выделения ДНК-сорб-АМ (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Полиморфизм rs1801260 гена CLOCK определяли с помощью ПЦР-РВ с использованием прибора Bio-Rad CFX96.

В результате проведенного анализа нами не было выявлено ассоциации полиморфизма rs1801260 гена CLOCK с ИМТ и жировой массой тела у студентов, что может быть связано с их молодым возрастом и физической активностью. В результате проведения множественной регрессии среди студентов с поправкой на пол и возраст была выявлена ассоциация rs1801260 T аллеля с более поздним временем приема завтрака ($p=0,0096$) – известным фактором риска ожирения (Nimitphong et al, 2018, Kant et al, 2022). Кроме того, была выявлена ассоциация вечернего хронотипа (сова) с более поздним временем последнего приема пищи ($p=0,0139$), с более поздним отходом ко сну ($p<0,0001$), с более поздним временем подъема в выходные дни ($p<0,0001$) и с наличием проблем со сном ($p=0,0014$). Выявленные результаты показывают, что совы более склоны к нездоровым пищевым привычкам и нарушением циркадных ритмов, что может способствовать развитию у них ожирения (Mazri et al. 2019). Необходимы дальнейшие исследования для установления роли полиморфизма rs1801260 гена CLOCK в других возрастных группах.

*Работа поддержана грантом КГМУ № НИР 94-017-2022.*

# ОСОБЕННОСТИ РОСТА КЛЕТОК ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА В КОЛЛАГЕНОВОМ ГИДРОГЕЛЕ В СРАВНЕНИИ С ДРУГИМИ ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ И МОНОСЛОЕМ

***Д. М. Елагина, Л. М. Сенча, Т. А. Здобнова, И. В. Балалаева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *d.ela01@mail.ru*

Клетки нативной опухоли находятся в постоянном взаимодействии с внеклеточным микроокружением. Внеклеточный матрикс (ВКМ) способен влиять на протекание процесса канцерогенеза и на фенотип опухолевых клеток, что впоследствии может приводить к устойчивости к терапии. В настоящее время перспективным методом исследования роста опухолевых клеток является использование 3D-моделей опухолевого роста *in vitro*. В качестве 3D-каркаса часто используется коллаген, так как это самый распространенный белок ВКМ, способный обеспечивать приток кислорода и питательных веществ к клеткам за счет пористой структуры.

Целью данной работы было исследование влияния коллагенового матрикса на рост и экспрессию генов интереса клеток трижды негативного рака молочной железы человека, а также сравнение ростовых характеристик данной культуры с ранее полученными данными о поведении опухолевых клеток других линий.

Работа выполнена на клетках рака молочной железы человека MDA-MB-231, в качестве сравнения использовали клетки карциномы яичника SKOV3 и клетки эпидермоидной карциномы A431. Для создания трехмерной модели роста опухолевых клеток был использован раствор коллагена I типа в 0,1% уксусной кислоте, полученный из сухожилий крыс. Клетки были заключены в коллагеновые гидрогели, обогащенные питательной средой, путем смешивания клеточной суспензии и ингредиентов геля. Готовые гидрогели с заключенными в них клетками инкубировали в течение 7 суток при 37ºC и 5% $CO_2$. Морфологию клеток в монослое и трехмерном гидрогеле оценивали с помощью инвертированного микроскопа Zeiss AxioVert A1. Оценку ростовых параметров опухолевых клеток в коллагеновом геле проводили с помощью ежедневной ферментативной деструкции матриксов, окрашивания клеток 0,4% раствором трипанового синего и дальнейшего подсчета единичных живых клеток на камере Горяева. Также был выполнен сравнительный анализ уровня экспрессии генов-регуляторов эпителиально-мезенхимального перехода в 2D- и 3D-моделях опухолевого роста с помощью метода ПЦР в реальном времени.

В ходе исследования показано, что при переходе от 2D к 3D культивированию клеток наблюдается изменение общей морфологии клеток и формирование вытянутых оформленных клеточных образований. Полученные для линии MDA-MB-231 данные были сопоставлены с ростовыми характеристиками клеток карциномы яичника SKOV3 и клеток эпидермоидной карциномы A431. Были показаны изменения в экспрессии генов интереса при культивировании клеток в коллагеновых матриксах. Показано, что заключение клеток в матрикс из коллагена I типа для всех линий оказывает существенное влияние на морфологию и ростовые параметры опухолевых клеток. Такое влияние ВКМ важно учитывать при создании релевантных моделей опухолевого роста и разработке методов тестирования противоопухолевых препаратов.

*Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ (договор № 075-15-2022-293).*

# ТЕСТИРОВАНИЕ *IN VITRO* И *IN VIVO* НОВЫХ АЛЬГИНАТНЫХ МИКРОКАПСУЛ, ПОКРЫТЫХ PMOTA, ДЛЯ ЗАЩИТЫ ЭНДОКРИННЫХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

***П. С. Ермакова*[1], *Е. А. Васильчикова*[1, 3], *М. А. Батенькин*[2], *В. Е. Загайнов*[1], *А. В. Кашина*[1], *Е. В. Загайнова*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *ermakovatv2020@mail.ru*

[2]Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН

[3]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Цель исследования – тестирование стабильности, проницаемости и цитотоксичности *in vitro* и биосовместимости *in vivo* новых альгинатных капсул, покрытых полимером PMOTA, для иммуноизоляции островков Лангерганса (ОЛ).

Синтез капсул производился на микрофлюидной установке. Тестировались 3-слойные альгинатные капсулы «альгинат-PMOTA-альгинат». Для оценки механической и термической стабильности капсул оценены возможные изменения диаметра капсул и количества разрушенных капсул при различных стрессовых условиях. Капсулы помещали в дистиллированную воду на 2 часа, затем в изотонический раствор Хенкса. Эластичность или пластичность капсулы определяли по восстановлению диаметра после снятия напряжения. Для тестирования термостабильности капсулы инкубировались 7 дней при температуре 40°C. Проводился культуральный тест с использованием стандартных условий для инкубированния клеток ОЛ в течение недели. Проницаемость капсул оценивалась инкубированием инкапсулированных ОЛ с FITC-мечеными лектинами с молекулярной массой 36 и 120 кДа. Для инкапсуляции использовали ОЛ кроликов. ОЛ выделяли согласно стандартным методикам с собственными модификациями. Для анализа цитотоксичности капсулы определяли жизнеспособность клеток до и после инкапсуляции с использованием окрашивания Live/Dead. Оценка функциональной активности проводилась с использованием ИФА содержания инсулина в культуральной среде, в которой инкубировались ОЛ до и после инкапсуляции в нагрузке 300 ОЛ/мл. Для оценки реакции реципиента 1000 капсул трансплантировались в ткани сальника крыс. Через 7 дней капсулы вымывали физиологическим раствором, оценивали количество вымытых капсул их целостность, степень адгезии клеток и фиброзирования. Оставшиеся в тканях капсулы исследовали с использованием гистологического анализа.

Трехслойные капсулы «альгинат-PMOTA-альгинат» пластичны и эластичны. Размер капсул увеличивается на 5% при инкубации их в воде, после снятия осмотического напряжения капсулы возвращались к исходному размеру. Капсулы не разрушались при воздействии температуры или стандартных условий для инкубации ОЛ. Тем не менее наблюдается тенденция к увеличению их размеров. Капсулы проницаемы для лектинов с низкой молекулярной массой (36 кДа) и не проницаемы для высокомолекулярных лектинов (120 кДа), что позволяет инсулину проникать через мембрану и ограничивает прохождение компонентов иммунной системы. Более 90% выделенных ОЛ жизнеспособны как до инкапсуляции, так и в течение 5 дней после нее. В культуральной среде после инкубации ОЛ без капсул в течение суток обнаруживается 228±21 пг/мл инсулина – после инкубации инкапсулированных ОЛ 236±20 пг/мл инсулина. Через 2 недели после трансплантации капсулы были окружены формирующейся соединительной тканью, характеризующейся высокой клеточной плотностью. 48% капсул имели неповрежденную оболочку, четко определяемую полость. Через 1 месяц капсулы биодеградируют за счет макрофагальной реакции. Тем не менее капсулы не вызывают значительного воспаления (не наблюдается гнойного воспаления и некроза тканей). Фиброз вокруг капсул выражен незначительно.

В ходе тестирования новых альгинатных капсул, покрытых PMOTA выявлено, что они стабильны, обладают необходимой проницаемостью, ОЛ в капсулах остаются жизнеспособными и функционально активными.

# ЗООБЕНТОС ВЕРХНЕГО ТЕЧЕНИЯ РЕКИ ЛОЗЬВЫ (СЕВЕРНЫЙ УРАЛ)

***Т. В. Ермакова*, *Н. Н. Паньков***
Пермский государственный университет, 614068, Пермь, ул. Букирева, 15;
*ermakovatv2020@mail.ru*

Река Лозьва (бассейн Тобола) берет начало на южном склоне г. Отортен (Северный Урал) на высоте 885 м над уровнем моря. Ее длина составляет 637 км. В своем верхнем течении река имеет типично горный характер.

Сбор материала производился в конце августа 2022 г. на участке от Базы Ильича (65 км от истока) до поселка Вижай (141 км от истока). Пробы отбирались по методу Шредера-Жадина и гидробиологическим скребком.

В составе зообентоса исследованного участка выявлено 42 вида и формы. Наиболее разнообразно представлены личинки подёнок – 12 видов: *Baetis fuscatus*, *B. niger*, *B. vernus*, *Cloeon bifidum*, *Caenis macrura*, *Heptagenia coerulans*, *H. fuscogrisea*, *H. sulphurea*, *Habrophlebia fusca*, *H. lauta*, *Ephemerella ignita*, *Leptophlebia submarginata*. Ручейники насчитывают 10 видов и форм: *Oxyethira costalis*, *Hydroptila* sp., *Polycentropus flavomaculatus*, *Arctopsyche ladogensis*, *Hydropsyche nevae*, *H. pellucidula*, *Brachycentrus subnubilis*, *Lepidostoma hirtum*, *Ceraclea* sp., Limnephilidae gen. sp. Среди веснянок идентифицировано 3 вида – *Diura bicaudata*, *Leuctra fusca*, *Taeniopteryx nebulosa*. Наряду с ними до видового уровня были идентифицированы личинки бекасниц *Atherix ibis* и моллюски *Ancylus fluviatilis*. Кроме того, в составе бентоса присутствовали животные, которых удалось определить только до семейств. Это личинки жуков Elmidae, Haliplidae, Dytiscidae, двукрылых Chironomidae, Ceratopogonidae, Limoniidae, Tipulidae, Tabanidae, брюхоногие моллюски – Planorbidae, Lymnaeidae. Представители Ostracoda, Hydracarina, Oligochaeta, Nematoda не определялись.

На покрытых водорослевыми обрастаниями песчано-гравийно-галечных грунтах медиали плёсов формируется альголитофильное сообщество с биомассой 0,21 г/м$^2$ при численности 418 экз/м$^2$. На обросших водными мхами валунных грунтах рипали складывается фитолитофильное сообщество с биомассой 4,52 г/м$^2$ при численности 3,56 экз/м$^2$. К перекатам приурочен литофильный зообентоценоз, численность которого составляет 963 экз/м$^2$ при биомассе 0,34 г/м$^2$. На песчаных косах прибрежья формируется псаммофильное сообщество с биомассой 1,48 г/м$^2$ при численности 4,20 экз/м$^2$.

# ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ НАТИВНЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

***О. Н. Ермохина*[1], *М. Н. Иващенко*[1, 2], *А. В. Дерюгина*[1], *А. И. Ерзутов*[2]**

[1]Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, просп. Гагарина, 23;
*olya.ermoxina@list.ru*

[2]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Фертильность – критический фактор в процессе воспроизводства крупного рогатого скота, на который негативно влияет технологический стресс. Он увеличивает выработку свободных радикалов, что приводит к окислительному стрессу, снижающему качество спермы. Поиск способов снижения влияния технологического стресса на репродуктивную способность животных является актуальной задачей биологии. Перспективным направлением решения этой проблемы, является использование антиоксидантов. Принципиальным отличием молекулярного водорода ($H_2$) от других антиоксидантов является то, что $H_2$ избирательно нейтрализует высоко активный оксидант •OH, неконтролируемо реагирующий с нуклеиновыми кислотами, липидами, протеинами, что ведёт к фрагментации ДНК, перекисному окислению липидов и инактивации белков. Благодаря своим мягким, но действенным антиоксидантным свойствам, $H_2$ уменьшает окислительный стресс, вызывает многочисленные эффекты в клетках и тканях, включая антиапоптоз, антивоспалительный и метаболический эффекты. Цель данной работы заключалась в изучении функционального состояния нативных сперматозоидов быков при технологическом стрессе и действии молекулярного водорода.

Влияние $H_2$ изучали *in vitro*. В экспериментах использовали эякулят быков черно-пестрой породы в возрасте 3 лет. Исследовали образцы спермы, разбавленные растворителем «BioXcell» во всех случаях и дистиллированной водой (I группа), водой, насыщенной $H_2$ (II группа), образцы спермы быков, подвергнутых технологическому стрессу (III группа), образцы спермы животных, подвергнутых стрессу, на которую *in vitro* воздействовали $H_2$ (IV группа). Концентрация $H_2$ в растворе находилась в пределах 1,2-1,5 мг/л.

Для оценки функциональных показателей сперматозоидов использовали спермоанализатор SA-500. Обработка результатов проводилась по параметрическому t-критерию Стьюдента.

При анализе полученных данных было отмечено, что под влиянием технологического стресса ухудшились показатели фертильности, подвижность, количество подвижных, быстрых сперматозоидов, а также их средняя скорость. Количество медленных сперматозоидов повысилось на 51,59% ($p \leq 0,05$), что указывает на снижение фертильности. Сперма стрессированных животных после обработки $H_2$ (в сравнении с образцами спермы стрессированных животных, не обработанных $H_2$) улучшила свои показатели, подвижность возросла на 8,4%, количество подвижных – на 10,92%, количество быстрых – на 18,47%, средняя скорость – на 7,95%, а количество медленных сперматозоидов уменьшилось на 23,9% ($p \leq 0,05$). Из всего вышесказанного можно сделать вывод о положительном влиянии введения $H_2$ в состав разбавителя на функциональный статус репродуктивных клеток.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00205.*

# ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ И СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

***Д. А. Еробкина, А. В. Полозова, А. В. Дерюгина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*madam.erobkina@yandex.ru*

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) остаётся актуальной проблемой медицины и физиологии. Согласно современным исследованиям, ключевыми факторами, приводящим к патологическим изменениям в посттравматический период, является окислительный стресс, нейровоспаление и гипоксия. На многих моделях церебральных заболеваний показано, что молекулярный водород ($H_2$) обладает антиоксидантным действием. Однако, эффективность его использования при ЧМТ в литературе представлена незначительно. Цель исследования – изучение функциональных показателей эритроцитов и сосудистого эндотелия в посттравматическом периоде ЧМТ в условиях действия $H_2$.

Исследование было выполнено на крысах линии Wistar. Закрытую ЧМТ моделировали путем свободного падения груза массой 100 г с высоты 80 см на теменно-затылочную область мозга крыс. В течение 10 дней животных опытной группы ингалировали 2% газо-водородной смесью по 40 минут, контрольным животным ингаляции не проводили. Уровень физиологической нормы определяли по группе интактных животных. В работе исследовали ЭФПЭ, агрегацию эритроцитов, концентрацию МДА, активность каталазы, концентрацию АТФ и 2,3-ДФГ и количество циркулирующих десквамированныхэндотелиоцитов на 1, 3, 7 и 14 сутки посттравматического периода ЧМТ. Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программ BIOSTAT и MicrosoftExcel.

При оценке функциональных показателей эритроцитов в посттравматическом периоде ЧМТ было выявлено снижение ЭФПЭ, повышение агрегации эритроцитов, увеличение концентрации МДА на фоне снижения активности каталазы, концентрации АТФ и увеличения содержания 2,3-ДФГ относительно интактной группы животных. Исследование функциональных показателей эритроцитов при ингаляции $H_2$ выявило, что действие $H_2$ сопровождалось повышением ЭФПЭ, снижением агрегации эритроцитов и концентрации МДА на фоне увеличения активности каталазы и концентрации АТФ и 2,3-ДФГ относительно соответствующих показателей контрольной группы животных. Оценка состояния сосудистого эндотелия и степени его повреждения выявила, что у животных опытной группы с 3 суток отмечали уменьшение числа циркулирующих десквамированныхэндотелиоцитов с последующим восстановлением до значений нормы, в то время как в контрольной группе сохранялись нарушения эндотелиального слоя венозной стенки до конца периода исследования.

Таким образом, $H_2$ ингибирует свободнорадикальное окисление на фоне повышения клеточного метаболизма, повышает стабильность структуры мембран, тем самым препятствует образованию агрегатов эритроцитов, способствует снижению окислительного стресса и повышению жизнеспособности эндотелиальных клеток микрососудов. Полученные результаты свидетельствуют, что $H_2$ эффективен в коррекции функциональных показателей эритроцитов и эндотелиальной дисфункции в посттравматическом периоде ЧМТ.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АГРЕГАЦИИ И УПРУГОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМИЕЙ

***Г. В. Жаркова*, К. Е. Скотникова, Е. О. Владимова, Т. А. Веселова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*galekzharckova2014@yandex.ru*

Структурное ремоделирование эритроцитов в условиях гиперхолестеролемии может быть связано с накоплением в клеточной мембране холестерола, что оказывает влияние на физико-химические свойства эритроцитов и их мембраны, как следствие, на реологические свойства клеток и крови. Структурно-функциональные перестройки эритроцитов (повышение вязкости и упругости мембраны, снижение деформируемости, агрегация и др.) могут свидетельствовать о тяжести гиперхолестеролемии, наличии гипоксических повреждений тканей. Цель представленной работы – оценка упругости эритроцитов их способности к агрегации при гиперхолестеролемии методом акустической интерферометрии.

Материалами исследования служили образцы крови пациентов с гиперхолестеролемией – 40 образцов. В качестве контроля использовали образцы крови практически здоровых доноров – 30 образцов.

Содержание общего холестерина, ЛПНП, триглицеридов в крови оценивали ферментативными фотометрическими методами с использованием наборов реагентов «Диакон-ДС». Исследования упругости и агрегации эритроцитов проводили на акустическом анализаторе «БИОМ». Основой прибора является ультразвуковой интерферометр постоянной длины. Для оценки упругости эритроцитов (акустических параметров, АКП) исследовали изменения скорости распространения продольных ультразвуковых волн в плазме и цельной крови. Для оценки способности эритроцитов к агрегации изучали изменения акустического параметра (АКП) цельной крови в течение 240 секунд.

В представленной работе у пациентов с гиперхолестеролемией (содержание холестерола в плазме не менее 6,4 ммоль/л) показано статистически значимое повышение упругости эритроцитов по сравнению с показателем у практически здоровых доноров.

В образцах крови практически здоровых доноров процесс агрегации эритроцитов достаточно медленный, о чем свидетельствовало снижение акустического параметра крови (АКП) через 200 секунд после начала измерения. У пациентов с гиперхолестеролемией начало агрегации эритроцитов наблюдали в среднем через 90 секунд измерения. У части пациентов, показатели липидного профиля которых не отличались от нормы, графики агрегации эритроцитов были сходными с таковыми при дислипидемии, начало агрегации эритроцитов наблюдали на первых секундах измерения.

Таким образом, повышение упругих и агрегационных свойств эритроцитов у пациентов с дислипидемией свидетельствует о наличии нарушений реологических параметров крови, как следствие, гипоксии тканей. Полученные результаты позволяют предположить возможность использования акустических параметров эритроцитов в комплексной диагностике тяжести течения дислипидемий, эффективности проводимой терапии.

# ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ СОЗРЕВАНИЕ МОНОЦИТАРНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В ОТВЕТ НА ДЕЙСТВИЕ НОРОВИРУСНЫХ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ

***А.-М. Д. Жарова*[1], *В. Ю. Талаев*[2], *И. Е. Заиченко*[2], *М. В. Светлова*[2], *О. Н. Бабайкина*[2], *Е. В. Воронина*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*uglich_marie@mail.ru*

[2]Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Белок VP1 норовируса образует вирусоподобные частицы (VLP), перспективные для создания вакцин. Одним из этапов проверки вакцинных препаратов является определение их иммуногенности. Иммуногенность зависит от поглощения частиц антигенпрезентирующими дендритными клетками (ДК) и от их созревания, которое необходимо для эффективного привлечения Т-клеток в иммунный ответ.

Цель данной работы – исследование действия VLP из цельного белка VP1 норовируса GII.4 Sydney [P16], либо из S-домена этого белка на созревание моноцитарных ДК человека.

Методы исследования. Незрелые ДК получали культивированием моноцитов с GM-CSF и IL-4 и затем стимулировали VLP. Отрицательными контролями выступали незрелые ДК без стимуляции, а также ДК, инкубированные с лизатом бактерий *E. coli* Rosetta 2, трансформированных вектором без последовательности белка VP1. Лизат бактерий проходил все стадии очистки VLP. Созревание ДК оценивали по экспрессии молекул HLA-DR, CD80, CD83, CD86 и CCR7, ассоциированных с функциями зрелых ДК. VLP и лизат бактерий получены коллективом лаборатории иммунохимии ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной под руководством проф. В.В. Новикова.

Методом проточной цитофлуориметрии был выявлен статистически значимый рост поверхностных молекул дендритных клеток в ответ на VLP в концентрации 10 мкг/мл. Отмечен рост геометрической средней интенсивности флуоресценции (gMFI) при анализе экспрессии HLA-DR в ответ на цельные VLP (коэффициент корреляции Спирмена 0,264, $p \geq 0,05$) и частицы из S-домена белка VP1 (0,673, $p < 0,05$). Аналогичная зависимость выявлена для костимулирующей молекулы CD80 в ответ на цельные VLP (0,405, $p \geq 0,05$) и частицы из S-домена белка VP1 (0,451, $p \geq 0,05$). Доля клеток, экспрессирующих CD83, возросла при действии частиц из цельного белка (0,667, $p < 0,05$) и из S-домена VP1 (0,538, $p < 0,05$). Доля клеток с CD86 возросла после взаимодействия с VLP из цельного белка VP1 (0,684, $p < 0,05$) или из S-домена этого белка (0,791, $p < 0,05$). Аналогичная зависимость выявлена также и для CCR7 в случае цельных частиц (0,649, $p < 0,05$) и однодоменных VLP (0,864, $p < 0,05$). Изменения в доменном составе белка VP1 (отсутствие P-домена) не влияли на процесс созревания ($p \geq 0,05$).

В ходе работы было установлено, что норовирусные VLP эффективно индуцируют созревание ДК вне зависимости от наличия P-домена.

# ПЕРМЕАБИЛИЗАЦИЯ МЕМБРАН ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* В РЕЗУЛЬТАТЕ ЛАЗЕРНОЙ БИОПЕЧАТИ

***В. С. Жигарьков*[1], *А. А. Галлямов*[2], *А. И. Александров*[2], *Н. В. Минаев*[1], *В. И. Юсупов*[1]**

[1]ИФТ РАН, ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59; *vzhigarkov@gmail.com*

[2]ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33/2

Технология клеточной печати основана на переносе заданного количества биочернил на специальные приемные среды в виде непрерывных струй или отдельных капель. Отдельным направлением является лазерная биопечать, основанная на лазерно-индуцированном прямом переносе (LIFT). Использование лазера позволяет переносить крайне малые объемы вещества с высокой скоростью. С использованием данного подхода в настоящее время печатается широкий спектр биологических материалов. В целом, биопечать чаще связана с печатью тканей с использованием клеток млекопитающих для задач регенеративной медицины. Однако в последние годы развивается отдельное направление, связанное с печатью микробных клеток. В частности, показано, что биопечать дрожжевых клеток может найти применение для создания биокатализаторов в производстве этанола и для разработки биогибридных материалов. Потенциально биопечать также может быть применима в растущей области биосенсоров на основе дрожжей. Кроме того, лазерный перенос позволяет выделять трудно культивируемые микроорганизмы и даже микроорганизмы, культивировать которые ранее было невозможно.

Сам процесс лазерной печати представлен следующим образом. Обычно заранее готовят донорную пластину, состоящую из прозрачной для излучения подложки с тонким металлическим покрытием из металла, на которое наносится слой биочернил (суспензия клеток в гидрогеле). Во время печати короткий лазерный импульс поглощается металлической пленкой, что приводит к возникновению быстро расширяющегося парогазового пузырька, при расширении которого возникают струи жидкости. Необходимо отметить, что такой перенос происходит при большом ускорении и может также сопровождаться значительными скачками температуры и давления. Поэтому открытым остается вопрос клеточной выживаемости. Для получения статистически достоверного результата перенесенные клетки исследовались методом проточной цитометрии. Уровень клеточной гибели оценивался с помощью окрашивания интеркалирующим красителем йодидом пропидия (PI). Было установлено, что лазерная биопечать не вызывает значительного появления клеток с сильным окрашиванием PI, что характерно для окрашенных клеток, подвергшихся некротической гибели. Однако обнаружен не наблюдавшийся ранее эффект значительного увеличения проницаемости мембраны у перенесенных живых клеток. Помимо PI был опробован краситель FITC-Dextran (декстран, конъюгированный с изотиоцианатом флуоресцеина), который также используется для анализа повреждения клеток и, согласно экспериментальным результатам, применим для оценки проницаемости мембраны после лазерного переноса. Полученные данные дают более широкое представление о влиянии лазерной биопечати на живые клетки и могут предложить новое направление исследований, связанное с изменением проницаемости клеточных мембран.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках исполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59 в части оптимизации системы для биопечати, гранта РНФ 20-14-00286 в части оценки влияния лазерной биопечати на переносимые микрообъекты.*

# НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕТЕЙ С ЗПР СТАРШЕГО ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

***Д. В. Жирова*, *М. А. Яковлева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*zhirovadariya@yandex.ru*

Задержка психического развития (ЗПР) представляет собой обратимые нарушения интеллектуальной и эмоционально-волевой сферы, сопровождающиеся специфическими трудностями в обучении. Число лиц с задержкой психического развития достигает 15-16% в детской популяции. ЗПР является в большей степени психолого-педагогической категорией, однако в ее основе могут лежать органические нарушения, поэтому данное состояние также рассматривается с нейрофизиологической точки зрения.

Нами было проведено исследование с целью выявления нейрофизиологических особенностей детей с ЗПР старшего дошкольного возраста среди мальчиков и девочек возрастной группы 5-7 лет. Во время работы был использован нейропсихологический комплекс, включающий себя набор из 10 проб по методике Н.И. Озерецкого (модификации И.Ф. Марковской), направленных на выявление нарушений в отдельных звеньях сенсомоторных реакций. В исследовании участвовали две группы детей, воспитанники детских садов Сормовского района Нижнего Новгорода (№391 и №199): дети с задержкой психического развития и дети с нормотипичным развитием. Исследование проводилось с письменного согласия родителей и с соблюдением всех мер безопасности.

При рассмотрении результатов выполнения тестов по отдельным компонентам движений детьми с ЗПР и детьми с нормотипией выявлены различия.

Особенно это заметно при выполнении тестов, в которых требуется включение коркового уровня организации движений, т.е. пробы с формированием двигательного стереотипа, способности к удержанию и переключению двигательной программы.

Почти по всем пробам, за исключением пробы на синкинезию, большая часть детей с ЗПР, выполняла задания с замедлением и искажением чередования движений, движения в основном выполнялись изолированно, вместо плавной одновременной смены положений рук у испытуемых возникала цепь отдельных изолированных движений либо же отмечалось преимущественное отставание одной руки от другой. Такие результаты указывают на ряд отличий в формировании согласованной работы полушарий мозга в двигательной сфере у здоровых детей и у детей с дизонтогенезом, обусловленным ЗПР.

# ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АДЕНОЗИН КИНАЗЫ С ЭКСПРЕССИЕЙ CD39 И CD73 ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

***Г. А. Жулай*[1], *А. В. Васильева*[1], *М. И. Шибаев*[2], *Д. А. Аторин*[1]**

[1]Институт биологии Карельского научного центра РАН, 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, д.11; *zhgali-111@yandex.ru*

[2]Республиканская больница им. Баранова

Аденозинергичный путь является перспективной мишенью в противоопухолевой терапии. Внеклеточный аденозин (ADO) оказывает иммуносупрессорное действие на эффекторные клетки и препятствует эффективному противоопухолевому иммунному ответу. Поэтому важным является исследование механизмов, управляющих балансом АТФ и ADO. В настоящее время показана роль эктонуклеотидаз CD39 и CD73, участвующих в генерации внеклеточного ADO, а также фермента аденозиндезаминазы, конвертирующего ADO до инозина, в функционировании Т-клеток при развитии опухоли. В катаболизме ADO участвует также фермент аденозин киназа (ADK), фосфорилируя его до аденозинмонофосфата. Связь ADK с иммунной системой при раке изучена слабо. Поэтому целью работы было исследовать уровень экспрессии мРНК гена ADK и его изоформ ADK-L, ADK-S и их связь с содержанием Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD39/CD73, в периферической крови больных колоректальным раком (КРР).

Материалом исследования служили образцы крови больных аденокарциномой толстой кишки в основном (91%) умеренной степени дифференцировки в возрасте 65 ± 12,4 лет (n=31). Группу контроля составили здоровые лица сопоставимые по возрасту (n=20). Основными методами служили ПЦР в режиме реального времени и проточная цитометрия. Достоверность отличий показателей в группах сравнения определяли, используя коэффициент Манна-Уитни (при $p < 0,05$).

Полученные нами результаты подтверждают изменения уровня ADK в патогенезе КРР. По данным литературы отмечается, что локально, в опухолевой ткани идет повышение активации ADK, что может быть связано с накоплением ADO в микроокружении опухоли и его активный метаболизм. На системном уровне, напротив, мы наблюдали пониженный уровень мРНК ADK-L в группе больных с III-IV стадиями КРР по сравнению с группой здоровых лиц, а также обратную связь его изменения у больных с распространенным процессом (T2-T4). Тогда как содержание мРНК генов ADK и ADK-S не отличалось от контроля.

В работе обнаружены достоверные корреляционные связи в крови больных между уровнем экспрессии генов эктонуклеотидаз CD39/CD73 и генов изоформ ADK. Не было выявлено связи генной экспрессии ADK с геном, кодирующим аденозиновый рецептор A2A, который опосредует иммунную супрессию. В связи с этим была проанализирована связь содержания основных эффекторных и супрессорных популяций Т-лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности CD39/CD73, с изменениями экспрессии гена ADK. Для CD39+CD4+ Т-хелперов и CD39+ Treg-клеток выявлена достоверная корреляция с изменением содержания мРНК ADK-S у больных КРР.

*Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-75-00013.*

# СОВРЕМЕННАЯ ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕБОКСАРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ФИТОПЛАНКТОНА

***Д. А. Журова*[1, 2], *Е. Л. Воденеева*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*ruthheatherale@gmail.com*
[2]Нижегородский филиал ВНИРО, 603116, Нижний Новгород, Московское ш., 31

В настоящее время для оценки экологического состояния водных экосистем широко применяются гидробиологические показатели, в частности, структурные показатели фитопланктонного сообщества. Фитопланктон – основной продуцент органического вещества водоемов, характеризуется высокой скоростью роста и развития по сравнению с другими гидробионтами, является надежным индикатором состояния среды и позволяет отследить изменения в многолетней динамике.

Волга – важнейшая водная артерия европейской части России. Протекая по густонаселенным регионам страны, водоток испытывает колоссальную антропогенную нагрузку и нуждается в регулярном мониторинге и контроле качества воды. Цель работы – оценка экологического состояния Чебоксарского водохранилища на современном этапе с применением функциональной классификации фитопланктона.

Сбор альгологического материала проводился в июле-августе (период летней межени) 2022 г. в верхнем речном, среднем речном и озеровидном отделах Чебоксарского водохранилища в районе расположения крупных населенных пунктах. Отбор и последующая микроскопическая обработка проб, включающая в себя видовую идентификацию и определение размерных характеристик водорослей, выполнялись в соответствии с общепринятыми в гидробиологии методами. Для оценки экологического состояния использовался индекс экологического состояния EQR.

Во второй половине лета 2022 г. в фитопланктоне Чебоксарского водохранилища выявлено 155 таксонов рангом ниже рода, включая внутривидовые, из 7 отделов. Среди доминирующих групп выделяются зеленые водоросли, на долю которых приходится до 44% общего числа видов, наряду с цианобактериями (23%) и диатомеями (20%). Средние значения численности фитопланктона составляют 48,5 млн кл/л в верхнем речном течении, 59 млн кл/л в среднем речном течении, 106,9 млн кл/л в озеровидном участке, биомассы – 3,9, 7,3 и 13,8 г/м$^3$ в каждом отделе водохранилища соответственно, что характерно для эвтрофного и гипертрофного уровня. Согласно функциональной классификации фитопланктона выделена 21 группа (A, B, C, D, E, F, H1, J, K LM, LO, MP, N, P, Q, TB, S1, $X_1$, $X_2$, $X_3$, Y). Показатель экологического состояния EQR соответствовал в верхнем течении водохранилища «низкому» качеству (0,45), в среднем отделе – «хорошему» (0,61) и в озеровидном отделе – «плохому» (0,20).

*Авторы выражают искреннюю благодарность за помощь в сборе материала сотрудникам кафедры экологии Д. Е. Гаврилко и В. С. Жихареву.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ И НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА У САМЦОВ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 В МОДЕЛЯХ ЛИПОПОЛИСАХАРИД-ИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ И ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ

***О. Г. Заборская*[1], *О. М. Широкова*[1], *И. В. Мухина*[1, 2]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *zaborskaya_o@mail.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

При нейродегенерации или в случае попадания в организм воспалительных агентов, иммунные ответы мозга зависят от активации врожденного иммунитета с участием микроглии и астроцитов. При этом системное воспаление, исходящее из периферии, может необратимо изменить когнитивные и поведенческие состояния и привести к нейродегенеративным расстройствам. Однако механизмы, ответственные за порочную воспалительную петлю, которая превращается в хронический неврологический и когнитивный дефицит, до сих пор изучены недостаточно.

Целью данного исследования было выявление особенностей неврологического статуса и когнитивных функций молодых (4 месяца) мышей с острым и хроническим липополисахарид-индуцированным воспалением в сравнении с поведением физиологически старых мышей (18 месяцев).

В связи с поставленной целью решались следующие задачи:

– оценить влияние острого и хронического воспаления на физическое состояние молодых мышей и их неврологический статус;

– выявить особенности поведения мышей в тестах «Открытое поле», «Новый объект», «Лабиринт Барнс» после острого и хронического воспаления по сравнению с физиологически старыми мышами;

– провести анализ распределения нейронов, астроцитов и микроглии в CA3 области гиппокампа и префронтальной области коры у молодых животных с воспалением и старых животных.

Для исследования были использованы самцы лабораторных мышей линии C57BL/6 (питомник Пущино, Московская область). Внутрибрюшинное введение бактериальных липополисахаридов (ЛПС) *Escherichia coli* 0111: B4 (Sigma Aldrich) осуществлялось в дозировке 0,5 мг/кг 1 раз в неделю в течение 4 недель группе с хроническим введением и однократно в дозировке 5 мг/кг для группы с острым введением. В качестве групп сравнения были выбраны 4х-месячные животные с хроническим внутрибрюшинным введением забуференного физиологического раствора (контроль) и группа 18-месячных животных той же линии.

В работе было показано достоверное ухудшение неврологического статуса и снижение когнитивных функций в поведенческих тестах на гиппокамп-зависимые виды памяти у молодых мышей с моделью воспаления и у старых самцов C57BL/6. Группа молодых мышей с ЛПС-индуцированным хроническим воспалением обладала схожим поведенческим фенотипом с группой мышей с физиологическим старением и отличалась большим количеством активированных микроглиальных клеток в гиппокампальной области, ответственной за исследуемые виды памяти, что предполагает наличие ускоренного старения клеток мозга при хроническом воспалении молодых мышей.

*Работа выполнена в рамках государственного задания № 121030100282-6.*

# МНОГООБРАЗИЕ СЕНСИЛЛ ЭПИДЕРМИСА У БЕСКИШЕЧНЫХ ТУРБЕЛЛЯРИЙ (ACOELA)

***Я. И. Заботин***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*Yaroslav_Zabotin@rambler.ru*

Согласно современным филогенетическим данным, бескишечные турбеллярии (Acoela) представляют собой одну из наиболее примитивных групп билатерально-симметричных животных (Bilateria), в пределах которой можно наблюдать различные этапы формирования нового плана строения нервной системы и органов чувств. Тем не менее, на сегодняшний день ультраструктура сенсорных образований описана лишь для небольшого числа видов Acoela.

В ходе данной работы впервые была исследована ультраструктура эпидермальных сенсилл у трех видов Acoela из различных семейств: *Otocelis rubropunctata* (Isodiametridae), *Symsagittifera japonica* (Convolutidae) и *Amphiscolops* sp. (Convolutidae). Представители данных видов были собраны на литорали о-ва Мукаисима (префектура Хиросима, Япония) на песчаном грунте и в смывах с водорослей. Материал был зафиксирован целиком в 1% глютаровом альдегиде на 0,1 М фосфатном буфере и обработан для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) по стандартной методике.

В эпидермисе исследованных видов было обнаружено четыре типа одноресничных рецепторов. Для *O. rubropunctata* характерно три типа сенсилл – сенсиллы с тонким корешком (с микровиллями, отходящими непосредственно от реснички, или без них), сенсиллы с толстым корешком и сенсиллы со стереоцилиями (у последнего типа корешок отсутствует и заменяется крупным электронно-плотным подбазальным телом).

У *S. japonica* были обнаружены только сенсиллы без корешка, но с подбазальным телом, и с микровиллями, располагающимися в два круга вокруг реснички.

Наконец, у *Amphiscolops sp*. отмечено два типа сенсилл – сенсиллы с толстым корешком и сенсиллы со стереоцилиями (напоминающие аналогичные у *O. rubropunctata*), причем у данного вида эти два типа рецепторов часто расположены в плотном контакте друг с другом.

На основе литературных данных к обнаруженным в ходе данного исследования типам сенсилл Acoela можно добавить еще три типа одноресничных сенсилл (сенсиллы с двумя корешками, сенсиллы с шарообразной ресничкой и сенсорно-мышечные клетки, содержащие в базальной части миофибриллы), а также многоресничные сенсиллы. Большинство перечисленных типов сенсорных образований встречаются в различных семействах Acoela, в то время как некоторые являются специфическими для отдельных семейств и даже видов.

Таким образом, относительная простота общей организации нервной системы бескишечных турбеллярий отчасти компенсируется богатым многообразием эпидермальных сенсорных образований, хотя функциональная специфика каждого конкретного типа сенсилл на данный момент еще не установлена.

# ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИИ ТАКСОН-СПЕЦИФИЧНОГО ГЕНА LAWC В РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЕ САМОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

***Е. Л. Заволока*, Ю. Е. Воронцова, Р. О. Черезов, О. Б. Симонова**
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26;
*Workerbh000@gmail.com*

У *Drosophila melanogaster* ген Trf2 кодирует фактор базовой транскрипции и перекрывается с уникальным таксон-специфичным геном leg-arista-wing complex (lawc), не имеющим гомологов за пределами группы *melanogaster*. По нашим данным, lawc имеет короткую открытую рамку считывания (219 п.н.) и возник *de novo* примерно 30 млн лет назад. Функция Trf2 хорошо известна, однако, функция lawc оставалась неизученной.

Мы поставили следующие задачи: оценить фенотипические нарушения, вызванные подавлением экспрессии гена lawc в экспериментах *in vivo* по истощению его мРНК по пути РНК-интерференции (РНК-и) в разных тканях дрозофилы (нокдаун гена); создать трансгенную конструкцию для эктопической экспрессии белка Lawc и поставить эксперимент по "спасению" фенотипа предполагаемых lawc-мутантов. Для нокдауна гена lawc была создана линия трансгенных мух, экспрессирующих РНК-шпильки, комплементарные транскриптам lawc. Мы оценили фенотипические нарушения, вызванные нокдауном lawc, и показали, что он важен для развития репродуктивной системы самок. Подавление lawc-транскриптов в соматических фолликулярных клетках привело к стерильности самок и уникальному фенотипу – отсутствию формирования яйцевых камер (фолликулов). Таким образом, мы показали, что ген lawc обладает специфической функцией в организме, связанной с самовоспроизведением стволовых фолликулярных клеток в яичниках. Более того, оказалось, что нарушения, вызванные нокдауном lawc, сходны с фенотипом стерильных мутантов lawcu3, полученных нами ранее в результате перестроек района гена. Для доказательства специфичности выявленных нарушений мы создали векторную конструкцию для оверэкспрессии белка Lawc и поставили rescue-эксперименты по «спасению» фенотипа стерильных самок lawcu3. Оказалось, что индукция Lawc в фолликулярных тканях яичника самок lawcu3 восстанавливает формирование их фолликулярного слоя, яйцевых камер и даже яиц.

Результаты наших экспериментов показали, что ген lawc, возможно, функционирует независимо от гена Trf2, с которым он перекрывается, поскольку подавление экспрессии Trf2 в фолликулярных клетках не приводит к подобным аномалиям. Тем не менее, окончательный вывод можно сделать только после аналогичных экспериментов по спасению фенотипа самок lawcu3 на фоне дополнительной экспрессии TRF2. Изучение генов, возникших *de novo*, важно для понимания их биологического вклада в видообразование, а также расширяют представления об эволюции генома и функциональной направленности генов, возникших *de novo*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 20-04-00272а) и в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2022 года № 0088-2021-0007 «Молекулярно-генетические механизмы регуляции клеточной дифференцировки и морфогенеза». Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им Н.К. Кольцова РАН.*

# МОРФОЛОГИЯ МИОКАРДА КРЫС, РОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

***С. Н. Завьялов***
Южно-Уральский государственный медицинский университет, 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64; *chegresssss@mail.ru*

Одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем является проблема сахарного диабета. По данным экспертов Международной Диабетической Федерации в настоящее время насчитывается свыше 537 млн человек, имеющих данную патологию. При этом высокую долю среди них представляют женщины фертильного возраста. Это вызывает особую тревогу, так как сахарный диабет нередко приводит к рождению детей с, так называемой, диабетической фетопатией, в первую очередь находящей свое проявление в нарушении работы сердечно-сосудистой системы. В связи с этим, целью настоящего исследования является оценка структурно-функциональных особенностей миокарда потомства крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа.

Объектом исследования явилось потомство самок крыс линии Wistar с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа (стрептозотоциновая модель) в различные сроки постнатального онтогенеза, в том числе на 1-ый, 15-ый, 30-ый и 70-ый день после рождения (по 20 животных в каждой группе). Группу сравнения составили интактные животные соответствующего возраста по 20 крысят на каждый срок исследования.

Морфологическому исследованию подвергали серийные гистологические срезы верхушки левого желудочка экспериментальных животных, окрашенные гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону.

Измерение морфометрических показателей проводили с использованием программно-аппаратного комплекса «Видео Тест – Морфология 5.0». Статистическую обработку данных производили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 23.

В первую очередь обращает на себя внимание, что на всех исследуемых сроках по сравнению с контролем у животных опытной группы наблюдается увеличение абсолютной толщины миокарда. Данные изменения сопровождаются выраженной очаговой гипертрофией сократительных кардиомиоцитов на всех сроках исследования и перестройками в гистоархитектонике органа. При этом, несмотря на увеличение площади рабочих клеток, в миокарде наблюдается снижение доли паренхимы и, как следствие, увеличение удельной площади соединительнотканного компонента сердечной мышцы. Это обусловлено уменьшением числа сократительных кардиомиоцитов в единице условной площади, носящее более выраженный характер на ранних сроках онтогенеза. Более того, нами было установлено, что это в первую очередь обусловлено гибелью двуядерных форм кардиомиоцитов.

Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что экспериментальный сахарный диабет 1 типа матери обусловливает стойкие нарушения эмбрионального гистогенеза миокарда левого желудочка, что находит свое отражение в изменении морфофункциональных характеристик миокарда, начиная с периода новорожденности и вплоть до периода половой зрелости.

# УДАЛЕНИЕ ЗУБНОГО КАМНЯ С ПОМОЩЬЮ ТОМАТА

***И. И. Задорина*[1], *Е. И. Шагимарданова*[1], *А. К. Галиуллин*[2], *Д. Р. Байдамшина*[1], *Е. Ю. Тризна*[1], *А. Р. Каюмов*[1]**

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *zadorina1994@icloud.com*

[2]Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, 420029, Казань, ул. Сибирский Тракт, 35

Зубной камень представляет острую проблему в ветеринарной стоматологии домашних животных поскольку приводит к потере зубов. На зубах постепенно откладывается тонкий зубной налет из слюны и бактерий резидентной микрофлоры ротовой полости, частиц корма, эпителия, некоторых минеральных соединений. Если налет остается на эмали зуба в течение примерно 12 дней, то он постепенно пропитывается солями и затвердевает (процесс минерализации), прочно прикрепляется к поверхности зуба образуя зубной камень.

Если не принять меры по удалению зубного камня животных, то постепенно он увеличивается в размерах, мешает правильному смыканию челюстей и пережевыванию пищи, вызывает воспаление десны и отхождение её края от корня зуба, вследствие чего инфекция проникает вглубь и вызывает воспаление окружающих зуб тканей, вплоть до вовлечения в процесс соседних зубов, костной ткани и разрушения костей челюсти.

Самым распространенным методом на сегодняшний день для удаления зубного камня, является механическая очистка с помощью ультразвукового скалера. Эти манипуляции неприятны, и животное не станет их терпеть, поэтому в обязательном порядке применяют общую анестезию. Также для профилактики зубного камня используют: специальные жевательные косточки и мягкие игрушки, например, из сухожилий коров, специальные зубные щётки, зубные пасты и гели для животных. Данные способы малоэффективны, не вся поверхность зуба захватывается при самостоятельной очистке животным во время игры, не все животные заинтересуются и будут грызть, также невозможно не учитывать химические компоненты, которые могут вызвать аллергические реакции.

В данной работе мы использовали общедоступный продукт питания – плоды томата, которые предупреждают образование и разрыхляют зубные отложения в полости рта животного вследствие наличия в них естественных действующих компонентов, которые обладают свойствами размягчать и разрушать зубные камни.

Анализ показал, что обработка 1% суспензией томатной пасты в течение 5 дней приводит к снижению объема камня в 1.2 раз, 20 дней обработки снижает объем камня в 7.7 раз. Обработка в течение 5 дней камня на поверхности зуба приводит к разрыхлению камня и позволяет механически его удалить.

По результатам рентгенофлуоресценого анализа (РФА) происходит снижение содержания атомов кальция (Ca), фосфора (P) и увеличение содержания калия (K) в камне.

Таким образом, плоды томата обладают свойствами размягчать и разрушать зубные камни. Подход защищен заявкой на патент РФ № 2023103227.

*Работа выполнена за счет средств субсидий, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.*

# ПЛОДОВО-ЯГОДНЫЕ НАСАЖДЕНИЯ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ: НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГИОНАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ И ЭКОСИСТЕМНЫХ УСЛУГ

***А. С. Заика***

Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, 443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34; *zaika_anna96@mail.ru*

НИИ садоводства и лекарственных растений «Жигулевские сады», 443095, Самара, ул. Пионерская, 16

Агроэкосистемы – это модифицированные экосистемы, они находятся в хорошем состоянии, когда поддерживают биоразнообразие, абиотические ресурсы (почва-вода-воздух) не истощаются, и они обеспечивают сбалансированное предложение экосистемных услуг. Важность изучения экологических аспектов функционирования агроэкосистем заключается в достижении устойчивого развития и способности предоставлять услуги нынешнему и будущим поколениям.

Для Самарской области, как, впрочем, и для России, нет достаточно углубленных исследований в части экосистемных услуг, в особенности услуг агроэкосистем. Была начата работа в этом направлении применительно к данному региону. Согласно данным Росстата, в 2016 году общая площадь плодовых, ягодных культур и винограда в Самарской области составляла 9458,4 га. Доминирующие площади многолетних насаждений занимают здесь семечковые культуры (яблоня, груша и др.) и составляют больше половины от площади всех плодовых и ягодных насаждений области. Практически равные площади заняты под ягодные (земляника, малина, смородина и др.) и косточковые (вишня, черешня, слива и др.) культуры – 2252,7 га и 1749,6 га соответственно. Всего 3% всей площади многолетних насаждений занимают виноградники (339,4 га), что связано с трудоемкостью выращивания культуры в данных климатических условиях. В незначительном количестве в области выращивают орехоплодные культуры – 9,2 га.

Существенным отличием агроэкосистем садов от природных экосистем и главной предоставляемой услугой для человека является выполнение такой функции, как обеспечение в необходимом объеме продуктами питания. В 2021 году валовый сбор плодово-ягодной продукции в Самарской области составил 19,0 тыс. тонн.

Специализированные центры, занимающиеся селекцией и районированием плодовых культур, являются центрами культигенного фиторазнообразия. Так, на площади около 100 га опытного и коллекционного участков ГБУ СО НИИ «Жигулевские сады», которые являются мозаичным комплексом агроэкосистем, присутствует 15 культур, которые представлены более чем 450 сортами.

Сравнительный анализ особенностей предоставления экосистемных услуг показал преимущественное значение культурных услуг садовых участков, а именно эстетического удовольствия, отдыха и передачи навыков возделывания различных культур, перед аналогичными услугами промышленных садов. Кроме того, лидирующие позиции в сохранении биологического разнообразия принадлежат также участкам населения, за счет, по большей части, применения меньшего объема средств защиты растений и удобрений.

# ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММОВ *P. PASTORIS*, ГЕНОМ КОТОРЫХ КОДИРУЕТ VP7 РОТАВИРУСА ЧЕЛОВЕКА

***Д. Е. Зайцев*[1, 2], *Д. А. Мелентьев*[1, 2], *В. А. Лапин*[1, 2], *Е. В. Мохонова*[1], *М. И. Цыганова*[1], *О. В. Морозова*[1]**

[1]Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71; *mitya.zaitseff@yandex.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Ротавирус человека (сем. Reoviridae п/сем. Sedoreovirinae, род *Rotavirus*) является возбудителем тяжелой детской диареи и причиной 35–50% госпитализаций детей до 5 лет. От ротавирусной диареи во всём мире каждый год погибает до 500 тысяч детей. В России ежегодно выявляется около 700 тыс. случаев острого гастроэнтерита. Наибольшая доля этих случаев связана с ротавирусной инфекцией. Высокая степень заболеваемости и низкий процент вакцинированных лиц показывает необходимость разработок отечественных вакцин против ротавируса.

Ротавирусы – безоболочечные РНК-вирусы с геномом из 11 фрагментов, кодирующих 12 белков. VP7 – поверхностный белок, несущий антигенные детерминанты, антитела к которым нейтрализуют вирус. Это обуславливает выбор VP7 в качестве антигена для вакцины от ротавируса. В связи с этим целью работы явилось получение штаммов *P. pastoris*, геном которых кодирует рекомбинантный белок VP7 ротавируса.

В работе использовали образец РНК ротавируса генотипа G9, циркулирующего на территории Нижнего Новгорода. Применяли методы компьютерного анализа нуклеотидных последовательностей, молекулярного клонирования нуклеиновых кислот, обратную транскрипцию, полимеразную цепную реакцию, химическую трансформацию, электропорацию и электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле.

На основе анализа нуклеотидных последовательностей произведён дизайн праймеров, специфичных для VP7, содержащих сайты рестрикции EcoRI и XhoI и последовательность, кодирующую 6 гистидинов. Методом ПЦР была получена кДНК рекомбинантного VP7 с 6 остатками гистидина, фланкированная сайтами EcoRI и XhoI. кДНК VP7 и плазмиду pPiczA обрабатывали рестриктазами EcoRI и XhoI и лигировали между собой. Лигазная смесь из фрагментов pPiczA и VP7 химически трансформирована в штамм *E. coli* DH5α. В ходе селекции клонов был отобран штамм *E. coli* DH5α, содержащий pPiczA с геном VP7 под контролем AOX1 промотора и терминатора. Плазмида pPiczA-VP7 была выделена из штамма *E. coli* и интегрирована в геном штаммов *P. pastoris* X33 и Glycoswitch SuperMan 5-23 методом электропорации. Проведена селекция клонов *P. pastoris* и детекция фрагмента VP7 методом ПЦР. В ходе ПЦР нарабатывался фрагмент длиной 900 п.н., что соответствует длине рекомбинантного VP7.

Таким образом, в ходе работы были получены штаммы *P. pastoris*, в геном которых интегрирован ген VP7 ротавируса человека генотипа G9, находящийся под контролем AOX1 промотора и терминатора.

# ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В СИНТЕЗЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МОНО- И ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК

***Н. Д. Закарова, А. В. Миронова, Е. Ю. Тризна, А. Р. Каюмов***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
*nargizazakarova@gmail.com*

В естественных условиях обитания бактерии зачастую существуют не в свободной форме, а в виде биопленок, которые обеспечивают их высокую выживаемость и устойчивость к неблагоприятным факторам среды. Это обусловлено наличием в биопленке внеклеточного матрикса, компоненты которого продуцируются самими микроорганизмами. Точный химический состав матрикса сильно различается у разных микроорганизмов и зависит от этапов роста бактерий и условий окружающей среды, но обычно он состоит из полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот.

Целью работы явилось установить уровень экспрессии генов, участвующих в синтезе внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*.

На первом этапе с помощью окрашиваний кристаллическим фиолетовым и Конго красным установили, что общая биомасса и объем внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок *S. aureus* и *K. pneumoniae* не отличаются. Также было установлено, что в смешанной биопленке *S. aureus – K. pneumoniae* происходит достоверное повышение количества полисахаридов по сравнению с мономикробными биопленками, а количество внеклеточной ДНК и белков в смешанной биопленке значительно не отличается от монокультур.

На следующем этапе была проведена оценка экспрессии генов icaA S. aureus и pgaA *K. pneumoniae*, связанных с синтезом полисахаридных компонентов матрикса биопленок с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Было отмечено значительное снижение экспрессии гена icaA в смешанной биопленке, в то время как экспрессия гена pgaA достоверно не отличалась в моно- и полимикробном сообществе. Следовательно, синтез полисахаридов в смешанной биопленке обеспечивается за счет клеток *K. pneumoniae*.

Таким образом, бактерии способны продуцировать одинаковое количество внеклеточного матрикса в моно- и полимикробных биопленках, при этом может происходить изменение количества отдельных компонентов, что влечет за собой структурную реорганизацию матрикса и образование пористой архитектуры биопленки.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (№ МК-3052.2021.1.4).*

# ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА, УРОВЕНЬ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО PH И СОДЕРЖАНИЕ $NA^+$, $K^+$ И $CL^-$ В ЛИСТЬЯХ ТАБАКА

***Д. А. Занегина, А. А. Печёрина, М. Н. Агеева, В. А. Воденеев, А. А. Брилкина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*darazanegina@gmail.com*

Засоление для растений является частым стрессором, из-за распространенности засоленных земель и нарушения системы орошения. Засоление оказывает неблагоприятное действие на фотосинтез. Вероятными причинами этого может быть нарушение содержания ионов $Na^+$, $K^+$ и $Cl^-$ и изменение pH в клетках листьев. Считается, что закисление цитозоля ингибирует карбоангидразу, влияя на доступность $CO_2$. Высокая концентрация $Na^+$ ингибирует АТФ-синтазу, Рубиско. $Cl^-$ в больших количествах вызывает деградацию хлорофилла. Недостаток $K^+$ ослабляет фиксацию $CO_2$ в ц. Кальвина и повышает продукцию АФК. Целью работы было изучение влияния засоления табака на активность фотосинтеза, уровень pH и содержание ионов $Na^+$, $K^+$ и $Cl^-$ в листьях.

Объектом исследования были растения табака *Nicotiana tabacum* линии 177/3С, экспрессирующие генетически кодируемый сенсор pH Pt-GFP. Растения проращивали из семян и использовали через 4–5 недель. Для создания условий засоления в закрытый снизу горшок приливали 100 мл 400 мМ NaCl после чего проводили анализ показателей через 1, 3, 5, 10, 24 и 48 часов в листьях трех ярусов (листья первого яруса располагались ближе к почве, листья третьего яруса – самые молодые). Мониторинг активности фотосистемы II (методом PAM-флуориметрии) и pH цитоплазмы (по анализу флуоресценции Pt-GFP) проводили на установке PlantExplorerPro$^+$. Содержание ионов $Na^+$, $K^+$ и $Cl^-$ в листьях и почве изучали ионометрически.

При засолении происходило изменение активности фотосистемы II, причем для более молодых листьев раньше, чем для более старого листа. Значения параметра $F_v/F_m$ достоверно снижались во 2 и 3 листьях через 24 часа, в 1 через 48 часов. Эффективный квантовый выход $Ф_{PSII}$ снижался для 2 и 3 листа табака через 10 часов, у 1 листа достоверное снижение через 24 часа. Засоление усиливало параметр NPQ, при этом достоверные изменения отмечены во 2 листе через 10 часов. Закисление цитоплазматического pH доходило до 0,7 единиц (48 часов), у нижнего листа достоверное снижение происходило через 9 часов, у 2 и 3 листа через 48 часов. Внесение раствора NaCl в почву, в которой культивировали табак, приводило к увеличению в 4 раза концентрации $Na^+$ в листьях через 24 часа и в 10-12 раз через 48 часов. Чем выше находился лист, тем содержание $Na^+$ было выше. Содержание ионов $K^+$ достоверно не изменялось. Концентрация $Cl^-$ достоверно увеличивалась в 2 раза (24 часа) во 2 и 3 листьях. Учитывая время изменения параметров фотосинтеза, pH цитоплазмы и содержания ионов в клетках листьев табака при засолении, можно предположить, что закисление и повышение содержания $Na^+$ не являлось причиной ранних изменений активности фотосинтеза, но могло вносить свой вклад в более поздние процессы, в том числе в нарушение структуры фотосистем.

*Исследование поддержано НЦМУ «Центр Фотоники», соглашение № 075-15-2022-293.*

# ЭТОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ К СТРЕССИРУЮЩИМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ У КРАСНОЙ ПОЛЕВКИ (*CLETHRIONOMYS RUTILUS*, CRICETIDAE, RODENTIA) И МАЛОЙ ЛЕСНОЙ МЫШИ (*APODEMUS URALENSIS*, MURIDAE, RODENTIA)

***О. В. Зеленкина*[1], *Н. А. Шавшаева*[2], *Н. П. Большакова*[1]**

[1]Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36; *zlnkna07@mail.ru*

[2]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

Типичными представителями фауны лесной зоны, ареалы которых перекрываются, являются красная полёвка (*Clethrionomys rutilus*) и малая лесная мышь (*Apodemus uralensis*). Данные виды населяют сходные местообитания и имеют сходный спектр потребляемых кормов, но различаются по внешнему виду и образу жизни. Можно предполагать, что лесные мыши, более подвижные и агрессивные в природе, будут демонстрировать эти же качества в стандартных поведенческих тестах. Целью нашей работы стало сравнение этолого-физиологических характеристик красной полёвки и малой лесной мыши.

Исследования были проведены на 18 особях красной полёвки, рождённых в виварии ИСиЭЖ СО РАН в г. Новосибирск, и 18 особях малой лесной мыши, отловленных на Карасукском научном стационаре ИСиЭЖ СО РАН в Новосибирской области. Было проведено тестирование поведенческих характеристик особей обоих видов (в тестах «Открытое поле», «Парное ссаживание» и «Чёрно-белая камера») и оценена способность к поддержанию температурного гомеостаза по разности температур до и после 15-минутного охлаждения в гелиево-кислородной смеси. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica, версии 10.0.

Результаты исследования показали, что в индивидуальных тестах (открытое поле и чёрно-белая камера) красные полёвки демонстрировали, в целом, меньше актов, отражающих уровень эмоциональности, а в тесте парного ссаживания больше актов, отражающих интенсивность социальных взаимодействий животных. Способность к поддержанию температурного гомеостаза была менее выражена у малых лесных мышей и коррелировала с частотами поведенческих актов, отражающих двигательную и исследовательскую активность животных.

Красная полёвка и малая лесная мышь обитают в лесной зоне и питаются в основном плодами и семенами растений. Сходный образ жизни определяет сходные паттерны их поведения в стандартных тестах. Выявленные различия между видами могут быть связаны с особенностями пространственно-этологической структуры и ритмами их суточной активности. Малые лесные мыши, как и все представители подрода *Sylvaemus*, являются подвижными животными, активно использующих трёхмерное пространство древесно-кустарникового яруса. Вместе с тем, преимущественно ночная активность делает, очевидно, тестовые условия более стрессовыми для данного вида, чем для красной полёвки как вида с полифазной активностью. Как у красных полёвок, так и у лесных мышей более активные и подвижные особи демонстрировали меньшее снижение температуры тела после острого охлаждения.

# ВЛИЯНИЕ ДИЕТ НА ОСНОВЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

***Н. В. Земская*, Д. В. Кукумань, М. В. Шапошников, Е. Ю. Платонова, Н. С. Уляшева, Н. Р. Пакшина, Д. А. Голубев, А. А. Москалев***

Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; *kukushonok90@yandex.ru*

Генетические факторы, условия окружающей среды и образ жизни определяют продолжительность жизни человека. Из них питание является одним из ключевых компонентов, влияющих на здоровье. Исследования на модельных организмах и грызунах показали, что с помощью корректировки диеты можно увеличить продолжительность жизни. С целью увеличения продолжительности и улучшения качества жизни организма, необходимо дополнять рацион различными фитонутриентами, которые могут обладать геропротекторными (антивозрастными) свойствами. Так, целью настоящего исследования являлось нутрициологическое исследование хлебных злаков с ранее установленным высоким геропротекторным потенциалом на модели *D. melanogaster*.

Нами был проведен нутрициологический скрининг эффекта диет на основе хлебных злаков на выживаемость дрозофил. Образцы 15 видов пшеницы (род *Tríticum*) были получены с делянки № 2021 Дагестанской опытной станции Федерального исследовательского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (Дербент, Россия). Также был получен 1 образец ржи (*Secale* sp.) и 2 образца тритикале (×*Triticosecale* sp.). Всего было исследовано более 70 образцов. На основе полученных данных были выявлены диеты с наибольшим положительным эффектом на выживаемость дрозофил в условиях эксперимента и обладающие высоким геропротекторным потенциалом: Дербентская черноколосая, Янтара, линия 1, 1222, 904, 939, 5807, 5811, 5814. Кроме того, для отрицательного контроля использовали образец 5766 (снижение продолжительности жизни) и в качестве контроля образец 5762 (нет эффекта на продолжительность жизни). Проводили оценку влияния диет на основе разных сортов хлебных злаков, показавших наибольшее изменение выживаемости дрозофил на этапе скрининга, на показатели жизнеспособности, включая продолжительность жизни, уровень метаболической активности, массу тела, уровень потребления пищи, характеристики пищеварения по морфологии фекальных пятен, локомоторную активность и выживаемость в неблагоприятных условиях (гипертермия, голод и окислительный стресс), уровень экспрессии генов, связанных с антимикробным ответом, поддержанием целостности кишечника и метаболизмом.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что модулирование качественного состава диеты на основе хлебных злаков ведет к существенным изменениям физиологического состояния модельного организма *Drosophila melanogaster* и изменению такого интегрального показателя как продолжительность жизни. Полученные в настоящем исследовании результаты могут быть использованы при разработке нутрициологических подходов к обеспечению здорового долголетия, повышению адаптивных возможностей организма и отсрочиванию формирования возраст-зависимых патологий.

*Работа выполнена при поддержке Гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий № 2021-1930-FP5-9600-3182.*

# ВЗАИМООТНОШЕНИЕ ВЫСШИХ ГРИБОВ И БАКТЕРИЙ *IN VITRO*

***Ю. А. Злобина*, *А. А. Широких***
[1]Вятский государственный университет, 610020, Киров, ул. Преображенская, 41/11;
*ylechkaaaa@mail.ru*
[2]Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, 610007, Киров, ул. Ленина, 166А

Базидиальные грибы принимают активное участие в симбиотических связях с растениями, а также взаимодействуют с бактериями. Бактерии могут выступать как в качестве патогенов, подавляющих рост грибов, так и в качестве помощников, стимулирующих мицелиальный рост и образование плодовых тел грибов.

В связи с этим целью наших исследований является изучение антагонистических взаимоотношений грибов и бактерий, выделенных из природных субстратов разных географических зон и ризосферы бобовых. В опыт было взято 5 культур бактерий: *Pseudomonas fluorescens* 1а-4, 1а-4-2, *Arthrobacter humicola* 30Н, *Flavobacterium saccharophilum* 3а-5, *Pedobacter agri* 85Td и 3 штамма гриба: *Flammulina velutipes, Hericium erinaceus, Schizophyllum commune*. Видовую принадлежность грибов и бактерий устанавливали на базе молекулярно-биологической лаборатории компании «Синтол». Идентификация бактерий проводилась на основании последовательности нуклеотидов участков гена 16S рРНК, а грибов на основании внутренних транскрибируемых спейсеров – ITS.

Антагонистические взаимодействия грибов и бактерий исследовали на сусло-агаре методом агаровых блоков. В центр чашки помещали агаровый блок диаметром 5 мм с мицелием изучаемого гриба, а по окружности раскладывали агаровые блоки с 3-х суточной биомассой бактерий, выращенных на среде RHM. На 4-14 сутки, в зависимости от скорости роста мицелия, учитывали зоны взаимодействия бактерий и грибов. В ходе исследования было проверено 15 сочетаний.

В результате исследования установлено, что мицелий разных видов грибов по-разному реагировал на присутствие бактерий. К *F. velutipes* 4 штамма бактерий в разной степени проявили антагонистическую активность, а *F. saccharophilum* 3а-5 оказала слабую стимулирующую активность на рост мицелия. Наибольший антагонизм проявила бактерия *P. fluorescens* и к *F. velutipes, H. erinaceus* и *Sch. commune*. Бактерия *P. fluorescens* 1а-4-2 замедляла рост мицелия *H. erinaceus*, тогда как A. humicola 30H наоборот стимулировала рост мицелия. Так же было отмечено, что *F. saccharophilum* и *P. agri* 85Td активно стимулируют образование плодовых тел *Sch. commune*.

Таким образом, все бактерии оказывали разное воздействие на скорость роста мицелия грибов, однако *P. fluorescens* проявляла антагонизм ко всем изучаемым штаммам гриба.

# РАЗРАБОТКА СИСТЕМ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ТИПИЧНОГО И МОДИФИЦИРОВАННЫХ ФОТОХИМИЧЕСКИХ ИНДЕКСОВ ОТРАЖЕНИЯ (PRI)

***Ю. А. Золин*, Е. М. Сухова, В. С. Сухов**

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*uchebnayap.zolin@gmail.com*

Применение в сельском хозяйстве методов дистанционного мониторинга состояния высших растений позволяет своевременно принимать меры по защите урожая. Мульти- и гиперспектральный имиджинг отраженного света являются перспективными методами, позволяющими быстро выявлять стрессовые изменения. Значительный интерес представляет оценка изменений типичного и модифицированных фотохимических индексов отражения (PRI), опирающихся на отражение света на длинах волн 531 и 570 нм для типичного PRI и 510, 546, и 572 нм для модифицированных PRI. Однако, на сегодняшний день имеется лишь ограниченное число систем для измерений таких индексов. Целью работы стала совместная с ИПФ РАН разработка базовой и модифицированной систем для измерения типичного и модифицированных PRI и сопоставление их эффективности. Базовая система PRI-имиджинга включала в себя две камеры с объективами, оптические узкополосные светофильтры со спектрами пропускания в областях, используемых для расчёта типичного PRI длин волн, светоделительную пластину, светодиодный облучатель с жёлто-зелёным диапазоном излучения, плату управления камер и светодиодных источников. Модифицированная система имела ряд отличий: использование одного оптического вход для измерений, применение механической системы для смены светофильтров, одновременное применение нескольких узкополосных светофильтров (448 нм, 510 нм, 532 нм, 546 нм, 572 нм и 685 нм). Последнее позволяло одновременно измерять как типичный PRI, так и его модификации. Для оценки эффективности использования базовой системы PRI-имиджинга был выполнен ряд работ с индуцированием почвенной засухи и сильного солевого стресса (400 мМ NaCl) у проростков гороха и пшеницы. Было показано достоверное изменение типичного PRI, что свидетельствует об эффективности использования базовой системы PRI-имиджинга. Однако, изменения типичного PRI могли возникать на достаточно поздних этапах действия стрессоров, в свою очередь приводя к снижению эффективности мониторинга. При оценке эффективности использования модифицированной системы PRI-имиджинга был проведён ряд работ с индукцией водного дефицита, в которых сравнивалась эффективность обоих разработанных систем. Результаты показали достоверные изменения типичных и модифицированных PRI; в то же время, было показано, что использование модифицированной системы PRI-имиджинга обладает рядом преимуществ. В частности, изменения типичного PRI такой системой могут быть выявлены на более ранних этапах развития водного дефицита. Кроме того, изменения модифицированных PRI являются более чувствительными к действию стрессоров.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-76-20032).*

# ВЛИЯНИЕ РЫБЬЕГО ЖИРА НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ У КРЫС ПРИ ПЛАВАНЬЕ С ГРУЗОМ ДО ОТКАЗА

***А. С. Иванов*, *М. А. Шабалин, П. В. Ястребов, Г. А. Бояринов, А. В. Дерюгина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*anton0000-mar@yandex.ru*

Микроциркуляторное русло (МЦР) – это сложный анатомо-морфологический комплекс сосудов, обеспечивающий кровенасыщение органов и тканей, участвующий в транскапиллярном обмене. Оптимальная концентрация веществ в тканях поддерживается работой микроциркуляторного русла обеспечивая нормальное течение тканевого обмена веществ. Являясь наиболее чувствительным к воздействию экзо- и эндогенных факторов элементом кровеносной системы, показатели микроциркуляторного русла способны дать оценку степени адаптационных возможностей организма в ответ на оказываемое воздействие. Целью данной работы являлось исследования влияния рыбьего жира и озонированного рыбьего жира на динамику перфузии и состояние окислительного метаболизма в тесте до отказа у крыс.

В ходе исследования использовали 20 половозрелых крыс массой около 300 грамм. Особи были разделены на 3 группы: 1 группа - животные, получавшие физ. раствор; 2 группа - рыбий жир (РЖ); 3 группа - озонированный рыбий жир (ОРЖ). Нагрузочный тест проводили 4 раза, в период постнагрузочного восстановления крысы получали перорально исследуемые соединения в зависимости от группы. Тестирование животных проводили 6 раз: до, после нагрузочного теста (4 раза) и после отмены препаратов. Замер показателей кровотока проводился лазерным диагностическим аппаратом “ЛАЗМА-СТ” (НПО «Лазма», Россия). Оценивался показатель микроциркуляции (ПМ), выраженный в перфузионных единицах (п.е.), который представляет собой средний уровень перфузии крови в единице объема зондируемой зоны. Моделирование физической нагрузки до отказа проводилось путем подвешивания груза массой 10% от массы крысы на основание хвоста и погружение особи в бассейн до момента отказа от всплытия на поверхность вследствие усталости. Экспериментальные данные обрабатывали статистически с использованием Microsoft Excel.

В результате использования РЖ регистрировалось увеличение микроциркуляции у крыс на протяжении всего исследования после нагрузочных тестов относительно исходного значения. Использование ОРЖ также вызывало увеличение микроциркуляции, но выраженность изменений была меньше по сравнению с РЖ. У контрольной группы животных на протяжении всего исследования после нагрузочных тестов микроциркуляция не изменялась. Поскольку величина показателя микроциркуляции определяется усредненной линейной скоростью кровотока и концентрацией эритроцитов в исследуемом объеме ткани, можно предположить, что предварительное использования РЖ и ОРЖ перед нагрузочными тестами способствовало улучшению микроциркуляции при физической нагрузке за счет усиления кровотока и концентрации эритроцитов, что может способствовать оксигенации крови и транскапиллярному обмену.

# ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ИНДУЦИРОВАННУЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМИ СИГНАЛАМИ УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСУХЕ У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

***А. В. Иванова*, Ю. А. Немцова, В. А. Воденеев, М. А. Гринберг**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*zelenkaeee@gmail.com*

Все живые организмы, в частности растения, во время роста и развития подвергаются воздействию неблагоприятных условий. Для того, чтобы растение не погибло, ему необходимо противостоять таким стрессорам. За развитие устойчивости во многом отвечают различные стрессовые сигнальные системы. В природной среде растения могут подвергаться сразу нескольким видам воздействий, таким как облучение, засуха, переувлажнение, неблагоприятные температуры и т.д. Механизмы формирования устойчивости к комбинации стрессов разной природы у растений в настоящее время изучены недостаточно. Перспективным подходом представляется изучение модификации стрессовых сигнальных систем под действием низкоинтенсивных стрессоров хронического характера. Так, в наших предшествующих работах было показано, что хронически действующие факторы среды (ионизирующее излучение (ИИ), УФ, засуха), могут влиять на параметры стрессовых электрических сигналов (ЭС), вызванных краткосрочными стрессорами (повышение температуры). Целью настоящей работы являлось изучение влияния хронически действующего ИИ на индуцированную ЭС устойчивость к засухе у растений пшеницы.

Исследования проводились на проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.). В качестве источника ИИ использовался β-излучатель 90Sr-90Y с активностью 0,1 МБк и мощностью дозы примерно 31,3 мкГр/час. Для анализа влияния ИИ на индуцированную сигналом устойчивость к засухе растения разделяли на следующие группы: контроль, контроль_ЭС, контроль_засуха, контроль_засуха_ЭС; для ИИ аналогично. Засуха задавалась прекращением полива растений в возрасте 14 дней. В первый день засухи у половины растений нагревом кончика листа в кювете с водой индуцировали ЭС. Активность процессов фотосинтеза и транспирации оценивалась при помощи методов PAM-флуориметрии и ИК-термографии. ЭС регистрировались при помощи макроэлектродной техники. Измерения уровня фотосинтеза и транспирации проводились два раза в сутки до 9 дня засухи.

Показано, что у всех растений засуха вызывает снижение параметров фотосинтеза и подавление интенсивности транспирации, однако сроки наступления таких эффектов в разных группах отличаются. Результаты демонстрируют, что ИИ может влиять на вызванную электрическими сигналами устойчивость к засухе.

*Работа выполнена в рамках проекта Национального центра физики и математики (НЦФМ) «Экспериментальная лабораторная астрофизика и геофизика».*

# АССОЦИАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ЭКЗОСОМАЛЬНЫХ МИКРОРНК С ТЕРАПИЕЙ ИНГИБИТОРАМИ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК ИММУНИТЕТА ПРИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ

***Е. А. Иванова*[1], *Д. Д. Асадуллина*[1], *Г. Р. Гилязова*[2], *Р. Р. Рахимов*[3], *А. А. Измайлов*[3], *В. Н. Павлов*[2], *Э. К. Хуснутдинова*[1], *И. Р. Гилязова*[1]**

[1]Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа, просп. Октября 71-Е; *lissa987@yandex.ru*

[2]Башкирский государственный медицинский университет, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

[3]Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Башкортостан, 450054, Уфа, просп. Октября 73/1

Иммунотерапия ингибиторами контрольных точек иммунного ответа (ИКТИ) показала высокую эффективность при лечении светлоклеточной почечно-клеточной карциномы (скПКК). Однако ответ на терапию среди пациентов широко варьирует. Современные исследования демонстрируют высокий потенциал экзосомальных микроРНК в качестве диагностических и прогностических маркеров при онкопатологии. Настоящее исследование направлено на оценку профилей экспрессии экзосомальных микроРНК -144, -146a, -149, 126 и -155 у пациентов со светлоклеточной почечно-клеточной карциномой, получавших ингибиторы иммунных контрольных точек (ниволумаб) в качестве второй линии терапии. В исследование были включены 35 пациентов, у которых осуществлялся забор венозной крови до и после терапии ИКТИ. Анализ экспрессии микроРНК, находящихся в составе экзосом, проводили с использованием количественной ПЦР в реальном времени. В результате было продемонстрировано, что уровень микроРНК-146a увеличился после терапии (медиана (IQR) 12,92 (4,06-18,90)) по сравнению с уровнями до нее (медиана (IQR) 7,15 (1,90-10,50); p-value = 0,006). Напротив, уровень микроРНК-126 снижался после терапии ИКТИ (медиана (IQR) 0,85 (0,55–1,03) против 0,48 (0,15–0,68) до и после терапии, соответственно; p-value = 0,0001). Кроме того, было показано, что экспрессия микроРНК-146a снижается у пациентов с более высокой степенью иммунозависимых нежелательных явлений (p-value = 0,020). Значение AUC для комбинации микроРНК -146a и микроРНК -126 составило 0,752 (95% ДИ 0,585-0,918) с чувствительностью 64,3% и специфичностью 78,9%. Таким образом, можно предположить, что микроРНК -146a и микроРНК -126 могут быть использованы в качестве предикторов эффективности терапии ИКТИ, однако требуются дополнительные углубленные исследования.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-75-00087.*

# ПРИМЕНЕНИЕ МАННОЗЫ ДЛЯ УСИЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК

***Т. С. Иванова***

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *tatiana.ivanova2000@mail.ru*

Бактериальная инфекция играет важную роль в развитии уролитиаза. Резистентность патогенных и условно-патогенных микроорганизмов к антибиотикам усиливается, в связи с чем возникает необходимость поиска новых средств борьбы с инфекцией. Одним из таких способов является фотодинамическая инактивация бактерий. Цель работы – оценить эффективность применения маннозы как средства для снижения биопленочной активности уропатогенных микроорганизмов.

Исследовались штаммы, полученные от пациентов урологических отделений ГБУЗ НО «НОКБ им. Семашко», на базе НИИ ЭО БМТ ПИМУ. Идентификация бактерий осуществлялась с помощью пластин биохимических дифференцирующих для энтеробактерий и стафилококков (ПБДЭ и ПБДС, «Диагностические системы», г. Н. Новгород). Проводились тесты на чувствительность к антибиотикам с применением диско-диффузионного метода (индикаторные диски ДИ-ПЛС-50-01 НИЦФ). После анализа частоты встречаемости бактерий в образцах были отобраны наиболее часто встречающиеся штаммы: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* и *Klebsiella pneumoniae*. В ходе эксперимента проводился подбор оптимального режима фотодинамики, оценивалась чувствительность бактерий к воздействию. Для исследований влияния маннозы были взяты три концентрации: 10 мкг/мл, 100 мкг/мл и 1 мг/мл. В лунки с биоплёнками вносилось 200 мкл суспензии, после чего планшет инкубировался в термостате при 37°С, 4 сут. Результат оценивался с помощью окраски по Граму и Конго красным.

Исследованные штаммы *S. aureus, E. coli, Ent. faecalis, P. mirabilis* и *K. pneumoniae* показали резистентность к основным группам антибиотиков, при этом в отношении фотодинамической терапии наблюдался выраженный бактерицидный эффект: 100% для Гр+ бактерий и 80% для Гр- флоры. Анализ результатов инкубации биоплёнок с маннозой показал, что увеличение концентрации приводит к снижению плотности биоплёнки: 100 мкг/мл – на 20%, 1 мг/мл – на 50 %. Концентрация 10 мкг/мл спровоцировала рост биоплёнок на 16% в сравнении с контролем.

Метод фотодинамический инактивации бактерий является перспективным средством лечения инфекции мочевыводящих путей и средством профилактики рецидивирования уролитиаза. Он показал высокую эффективность как в лабораторном эксперименте, так и в стационарных условиях при лечении пациентов. Инкубация биоплёнок с маннозой приводит к сокращению её плотности.

*Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 21-15-0037.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ АЛЬГИНАТ-ЖЕЛАТИНОВЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ МЕТОДОМ ЦИКЛИЧЕСКОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

***М. М. Игнатьева***
Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1;
*marina.ignateva.97@bk.ru*

Альгинаты являются полиуронидами – полисахаридами, молекулы которых, построены из остатков уроновых кислот. Для формирования геля используют соли кальция, так как гулуронатные блоки проявляют сродство к Ca2+. Данный полисахарид широко используется в составе биочернил и скаффолдов для тканевой инженерии. В животных тканях комбинированные гидрогели из белков и кислых полисахаридов формируют межклеточный матрикс, диффузионные свойства которого определяют течение многих биохимических процессов. Альгинат-желатиновый гидрогель может служить моделью межклеточноного матрикса при изучении диффузии. Целью работы стало исследование диффузионных свойств комбинированных гидрогелей в электрохимическом эксперименте.

Для моделирования гидрогелевых сред использовали альгинатный и желатин-альгинатный гели в виде 3% исходных растворов на фосфатно-солевом буфере (ФСБ). На рабочий электрод наносили 1 мкл гелеобразователя. Гели полимеризовали 2 М раствором CaCl2, избыток которого удаляли с электрода перед измерением. Использовался диапазон потенциалов -450…0 мВ. Для оценки диффузии измерения проводились в течение 40 минут с интервалом 5 мин. Концентрация толуидинового синего (ТС) во всех измерениях была постоянной и составила 0,1 мМ. Фоновым электролитом служил ФСБ.

Поступление ТС к поверхности электрода зависит от диффузионных свойств геля. Взаимодействие катионного красителя ТС с полианионной молекулой альгината приводит к электростатическому связыванию красителя с анионами геля, что значительно ограничивает диффузию красителя к поверхности электрода. При смешивании желатина с альгинатом без полимеризации кальцием происходят существенные изменения в диффузионных свойствах гидрогеля. Сила тока сопровождающая восстановление ТС в комбинированном (альгинат-желатиновом) геле достигает 0,45 мкА, а в альгинатном геле 0,29 мкА. Расчетное значение коэффициента диффузии ТС при использовании альгинат-желатинового ($D = 7{,}5 \cdot 10^{-10}$ м$^2$/с) гидрогеля выше, чем в альгинатном ($D = 4{,}3 \cdot 10^{-10}$ м$^2$/с) и альгинат-желатиновом ($D = 4{,}5 \cdot 10^{-10}$ м$^2$/с) гидрогеле с полимеризацией кальцием.

При исследовании альгинат-желатинового геля полимеризованного Ca зависимости «ток-время» были сходны с альгинатом. Вероятно, в данных гидрогелях молекулы катионного красителя сорбируются, что снижает эффективность диффузии. В среде альгинат-желатинового гидрогеля не полимеризованного Ca электрохимические процессы определяются только диффузией.

Таким образом, электрохимический эксперимент с использованием ТС в качестве электроактивной метки позволяет оценить качественный состав гидрогеля.

# ВЛИЯНИЕ NS1619 НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ МЫШЕЙ

***А. Д. Игошкина*, Е. И. Хорошавина, М. В. Дубинин**
Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*anastasi.igoshkina@yandex.ru*

Известно, что активация $Ca^{2+}$-активируемого калиевого канала ($BK_{Ca}$) производным бензимидазола NS1619 обладает цитопротекторным действием. Недавно нами установлено, что NS1619, активируя транспорт ионов калия через внутреннюю мембрану митохондрий скелетных мышц, снижает продукцию АФК органеллами, смягчая развитие мышечной дистрофии Дюшенна. Наряду с этим нами было выявлено снижение параметров дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях скелетных мышц животных, получавших NS1619.Сделан вывод, что этот агент обладает плейотропным действием и способен оказывать влияние и на функционирование других систем митохондрий. Для выявления дополнительных мишеней этого агента, в настоящей работе нами оценено влияние NS1619 на функционирование изолированных митохондрий скелетных мышц мышей линии C57BL/10. Установлено, что NS1619 дозозависимо повышает скорость дыхания митохондрий в состояниях 2 и 4, а также снижает скорость дыхания органелл в состояниях 3 и $3U_{ДНФ}$. Такое действие NS1619 сопровождается снижением параметра дыхательного контроля и эффективности синтеза АТР. В условиях энергизации органелл глутамат/малатом увеличение скорости дыхания в состоянии 4 частично устраняется внесением ингибитора $F_1F_o$-АТРазы олигомицина. Это может свидетельствовать о способности NS1619 нарушать процесс фосфорилирования ADP за счет снижения активности комплексов дыхательной цепи и/или обращения активности АТР-синтазы. Действительно, нами установлено, что NS1619 подавляет активность АТР-синтазы, а также комплексов I, III и IV дыхательной цепи митохондрий скелетных мышц мышей. Такое действие NS1619 сопровождается снижением мембранного потенциала органелл, а также снижением их устойчивости к индукции кальций-зависимой МРТ-поры. В работе обсуждаются механизмы действия NS1619 на митохондрии скелетных мышц, которые могут лежать в основе его побочных эффектов, обнаруженных в экспериментах *in vivo*.

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда (№20-75-10006).*

# ИССЛЕДОВАНИЕ НАТИВНОЙ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО КОФАКТОРА НАД(Ф)Н ИММУННЫХ КЛЕТОК МЫШЕЙ МЕТОДОМ FLIM КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО МАРКЕРА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ

***А. В. Изосимова*[1, 2], *А. М. Можеров*[1], *М. В. Ширманова*[1], *Е. В. Загайнова*[1], *Г. В. Шаронов*[1, 3], *Д. В. Южакова*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *annizosimova@gmail.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

[3]Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1/7

Терапия ингибиторами контрольных точек иммунитета является одним из перспективных направлений современной онкоиммунологии. Однако большая часть пациентов, получающих препараты этой группы, не демонстрирует ответа на лечение. Необходимы надежные маркеры ранней эффективности иммунотерапии. Перспективной стратегией может быть оценка метаболического статуса лимфоцитов, отражающая ключевые изменения в ответ на опухоль и терапию. Инновационным подходом для оценки метаболизма клеток является время-разрешенный флуоресцентный имиджинг (FLIM) метаболических коферментов. Однако работы по FLIM-визуализации лимфоцитов немногочисленны. Целью работы было исследование нативной автофлуоресценции иммунных клеток мышей методом FLIM как потенциального маркера эффективности иммунотерапии.

Исследование проводили на мышах линии C57Bl/6 FoxP3-EGFP с привитой меланомой B16F0 вблизи пахового лимфатического узла. Иммунотерапию блокирующими анти-CTLA-4 антителами (Bio X Cell, США) (250 мкг на мышь, внутрибрюшинно) проводили на 7, 8, 11 и 12-й дни роста опухоли. FLIM-изображения в канале кофермента никотинамидадениндинуклеотида (фосфата) (НАД(Ф)Н) (возбуждение 375 нм, прием 435 -485 нм) получали с помощью флуоресцентного конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Германия), оснащенного модулем FLIM Simple Tau 152 TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Германия). Анализ на маркеры активации и пролиферации проводили с помощью клеточного сортера BD FACSAria III.

Зарегистрировано, что параметры времени жизни НАД(Ф)Н демонстрируют чувствительность к развитию опухоли. Наиболее значимыми изменениями в процессе роста опухоли были увеличение относительной амплитуды свободного НАДН α1, увеличение вклада фосфорилированной формы НАДФН α3 и удлинение времени жизни связанного с белком НАДН τ2 по сравнению с мышами без опухоли. Причиной может быть сдвиг в сторону гликолиза, усиление синтеза жирных кислот для обеспечения потребностей активированных клеток.

При анти-CTLA-4-терапии, у большей части мышей с торможением роста опухоли, наблюдалось увеличение вклада свободной компоненты α1, по сравнению с мышами с прогрессирующим ростом опухоли, а также с контрольными мышами без лечения с аналогичным размером опухоли. Данный эффект может быть связан со сдвигом в сторону гликолитического метаболизма, обеспечивающего повышенные потребности активированных клеток.

Данные FLIM коррелировали с данными проточной цитометрии по увеличению уровня экспрессии поверхностных (CD25 и CD69) и внутриклеточных (IFNg и Ki67) маркеров активации и пролиферации в субпопуляциях CD4+Th и CD8+ Т-клеток.

Продемонстрирована потенциальная возможность использования автофлуоресценции метаболического кофактора иммунных клеток в качестве надежного маркера иммунного ответа на опухоль и иммунотерапию.

*Работа поддержана грантом РНФ № 21-74-00101.*

# МЕТАГЕНОМНЫЙ БИОПРОСПЕКТИНГ НОВЫХ ЦЕЛЛЮЛАЗ ЭКСТРЕМОФИЛОВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ

***А. В. Иконников*[1, 2], *А. А. Корженков*[2], *С. В. Тощаков*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*alex.v.ikonnikov@gmail.com*

[2]НИЦ «Курчатовский институт», 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

В настоящее время существует повышенный спрос на изучение и дальнейшее биотехнологическое применение термофильных целлюлаз. Эндоглюканазы, экзоглюканазы, β–глюканазы и гемицеллюлазы имеют большое значение в процессе производства биотоплива (биоэтанола) из лигноцеллюлозной биомассы, также некоторые целлюлазы применяются в бумажной, текстильной и пищевой промышленности.

Целью научно-исследовательской работы являлся метагеномный биопроспектинг новых целлюлаз бактерий горячих источников при помощи биоинформатического анализа для возможного биотехнологического применения

Для получения информации о геномном составе исследуемых был использован метод полногеномного (\"shotgun\") секвенирования метагенома. Нуклеотидные прочтения были собраны *de novo* с помощью metaSPAdes. Полученные контиги были бинированы с использованием metaWRAP. Контроль качества восстановленных геномов (метагеномных бинов) проводился с помощью CheckM. Найденные метагеномные бины были таксономически профилированы с использованием GTDB-Tk. Предсказание генов проводилось с помощью GeneMarkS-2.

Функциональная активность предсказанных генов определялась с помощью hmmsearch по базе данных HMM-профилей Pfam. Последовательности предполагаемых ферментов были выравнены на базы данных Swiss-prot и ClusteredNR с помощью алгоритма BLAST. Поиск консервативных доменов осуществлялся с использованием CD-search. Было построено филогенетическое дерево исследуемых целлюлаз на основе множественного выравнивания с включением гомологов из баз данных Swiss-prot и Blastnr.

Были выбраны шесть наиболее перспективных предполагаемых аминокислотных последовательностей новых термофильных целлюлаз. Среди них обнаружились целлюлазы некультивируемых термофильных бактерий рода *Thermogutta* и семейства Anaerolineaceae. Также были найдены предполагаемые целлюлазы бактерий типа Acidobacteria и рода *Cryobacterium*. Предполагаемый таксономический профиль ферментов подтверждает положение ферментов на филогенетическом дереве в окружении гомологов близких таксонов. Данные научной литературы показали, что ферменты обнаруженных бактериальных таксонов остаются до сих пор плохо изученными. Для изучения применения данных целлюлаз в биотехнологическом производстве полученные последовательности пройдут этапы клонирования, экспрессии и анализа ферментативной активности.

# ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГОВ *PSEUDOMONAS PHAGE* KA1 ИЗ СЕМЕЙСТВА PODOVIRIDAE И *PSEUDOMONAS PHAGE* KA2 ИЗ СЕМЕЙСТВА MYOVIRIDAE

***И. В. Ильина*, А. Э. Гатина, В. Г. Палагина, А. С. Горшкова, В. В. Дрюккер, А. Р. Каюмов**
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*v_nikolayevna@inbox.ru*
Лимнологический институт СО РАН, 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3

Бактериальная инфекция возникает, когда бактерии проникают в какую-то часть тела и вызывают у человека заболевание. Чтобы выжить в борьбе с антибиотиками и стать устойчивыми, бактерии создали несколько стратегий резистентности. На сегодняшний день резистентность бактерий к антибиотикам одна из самых больших проблем здравоохранения, так как она ухудшает лечение бактериальных инфекций, особенно у людей с ослабленным иммунитетом. Требуются новые эффективные подходы для лечения инфекций, например, бактериофаговая терапия. Фаги – это вирусы, которые заражают бактерии. Из-за их специфичности использование фагов в качестве терапевтического варианта представляется очень выгодным. Бактериофаги являются приемлемым вариантом для лечения инфекций человека, поскольку они быстро убивают своего бактериального хозяина, и их можно использовать, смешивая несколько, что сводит к минимуму вероятность приобретения бактериями устойчивости к фагам. Более того, эти микроорганизмы заражают только свои целевые бактерии и не влияют на микробиоту человека-хозяина, в отличие от антибиотиков, которые могут индуцировать кишечный микробный дисбактериоз.

Целью данной работы было охарактеризовать бактериофаги *Pseudomonas phage* Ka1, *P. phage* Ka2 и оценить возможность сочетания фаготерапии с антибактериальными препаратами против клеток *P. aeruginosa*.

Из озера Байкал были выделены бактериофаги Ka1 и Ka2, способные лизировать клетки *P. aeruginosa*. Проведено полногеномное секвенирование генома бактериоофагов на платформе Illumina-SOLEXA (MiSeq). Геном Ka1 состоит из 46092 п.о. и имеет максимальную идентичность с геномом бактериофага Pseudomonas phage PSA37 (95 % идентичности при покрытии 79 %), принадлежащий к семейству *Podoviridae*. Геном Ka2 содержит 66310 п.о. и имеет максимальную идентичность с геномом бактериофага Pseudomonas phage S50 (97 % идентичности при покрытии 99 %), относящимся к семейству Myoviridae. Электронная микроскопия *P. phage* Ka1 и *P. phage* Ka2 подтвердила соответствие структуры Подовирусам и Миовирусам соответственно. В ходе исследований был выявлен синергетический эффект бактериофагов Ka1 и Ka2 с антибактериальными препаратами: амикацином, гентамицином, колистином, меропенемом, ципрофлоксацином. В присутствии бактериофага Ka1 минимальная подавляющая концентрация амикацина и меропенема снижалась до 4 раз, ципрофлоксацина – до 2 раз, с гентамицином и колистином синергетический эффект не наблюдался. В сочетании с бактериофагом Ka2 МПК амикацина, гентамицина, меропенема снижалась в 4 раза. Напротив, антагонизм наблюдался с колистином.

*Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.*

# РОСТ И АНАЛИЗ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ НА ЛИГНИНСОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТАХ

***Н. А. Имидоева*, Е. В. Малыгина, М. Е. Дмитриева, А. Ю. Белышенко, В. Н. Шелковникова, Д. В. Аксёнов-Грибанов**

Иркутский государственный университет, 664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 1;
*natasha-imideva@rambler.ru*

Проблема утилизации промышленных и техногенных отходов выступает одной из наиболее значимых и актуальных. Значительную часть отходов, не утилизируемых в Иркутской области, составляют химически измененные лигнинсодержащие субстанции. Такие отходы являются трудно разлагаемыми и способны накапливаться в больших количествах, занимая большие площади.

Большой интерес представляют микроорганизмы, населяющие такие субстраты. Известно, что бактерии, осуществляющие процессы деструкции, обладают адаптированным метаболизмом и способны к синтезу биологически активных природных соединений. Поэтому сейчас актуальны исследования, направленные на поиск микроорганизмов, способных не только осуществлять процессы биологической конверсии веществ различного происхождения, но и для создания новых агентов для фармацевтических препаратов на основе их вторичных метаболитов.

Целью работы было выделение чистых культур бактерий-деструкторов, населяющих образцы гидролизного лигнина, а также оценка их биотехнологического потенциала. Пробы гидролизного лигнина собраны на территории Байкальского целлюлозно-бумажного комбината. Образцы посеяны газоном на различные по составу питательные среды: NL19, NL19 с 10% лигноцеллюлозой, ММ, ММ с 10% лигноцеллюлозой, полифепан, сухую лигноцеллюлозу. Идентификацию штаммов проводили посредством амплификации гена 16S рРНК. Последовательности 50 штаммов были идентифицированы, как микроорганизмы, принадлежащие роду *Streptomyces* sp.

В ходе дальнейшей работы проведен анализ способности штаммов к росту на средах, содержащих гидролизный лигнин. Показано, что не менее половины выделенных штаммов способны к росту на сухой лигноцеллюлозе и не способны к росту на полифепане. Исследование штаммов на наличие антибиотической активности проводили с применением диско-диффузионного метода. Наиболее эффективными оказались среды для синтеза антимикробных веществ – NL19 и ММ. Вместе с тем, слабую ингибирующую активность отмечали для экстрактов штаммов *Streptomyces*, культивируемых на лигнинсодержащей среде. Примечательно, что такие тест-культуры, как *Pseudomonas putida, Saccharomyces cerevisiae* подавляются большим числом штаммов, культивированных на лигнинсодержащем сырье.

Оценка биотехнологического потенциала проведена с помощью современных подходов хроматографии и хромато-масс-спектрометрии низкого разрешения. *Streptomyces* sp. IB22-31A показал синтез не менее чем 14 низкомолекулярных природных соединений, синтезируемых микроорганизмом при культивировании на гидролизном лигнине.

Таким образом, показано, что выделенные в ходе исследования, штаммы способны использовать лигнин-содержащие субстраты в качестве источника питания. При этом они способны синтезировать различные, в том числе биологически активные метаболиты.

*Работа поддержана грантом Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно-образовательных центрах (проект 075-03-2021-141/4, МНОЦ Байкал).*

# ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНАЦИЙ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ОТНОШЕНИИ ПЛОТНОСТНО-ЗАВИСИМОЙ ХИМИЧЕСКОЙ КОММУНИКАЦИИ У ВИОЛАЦЕИНПРОДУЦИРУЮЩЕГО ШТАММА *CHROMOBACTERIUM SUBSTSUGAE* ATCC 31532

***К. С. Инчагова*, *К. С. Лазебник***
ФНЦ Биологических систем и агротехнологий РАН, 460000, Оренбург, ул. 9 Января, 29;
*ksenia.inchagova@mail.ru*

Quorum sensing (QS) – это особый тип регуляции экспрессии генов бактерий, функционирующий в условиях критически высокой плотности их популяции. Первой из описанных и наиболее распространенных является двухкомпонентная система QS LuxI/LuxR-типа, присущая многим грамотрицательным бактериям. Поскольку QS участвует в синтезе факторов вирулентности и биопленкообразовании многих бактериальных патогенов, ингибирование QS является перспективным направлением для создания антибактериальных средств нового принципа действия, основанных не на прямом угнетении роста микроба, а на регуляции его генетической экспрессии. Один из таких подходов – использование растительных экстрактов и малых молекул растительного происхождения, идентифицированных в их составе, в качестве ингибиторов системы QS у бактерий.

Целью данной работы стало изучение QS-ингибирующей активности комбинаций малых молекул растительного происхождения с целью усиления каждой из них, применяемых по отдельности в отношении системы QS LuxI/LuxR-типа виолацеинпродуцирующего штамма *Chromobacterium substsugae* ATCC 31532.

Объектом исследования явились коммерчески доступные аналоги малых молекул растительного происхождения, полученные от Sigma-Aldrich (США), представленные кверцетина гидратом, ванилином и 7-гидроксикумарином.

Характер совместного взаимодействия исследуемых веществ в отношении плотностно-зависимой химической коммуникации проводили с использованием виолацеинпродуцирующего штамма *C. substsugae* ATCC 31532. Оценку результатов проводили с использованием многофункционального микропланшетного ридера Infinite 200 PRO («Tecan», Австрия). Анализ сочетанного воздействия исследуемых соединений проводилась с помощью изоболографического анализа.

В ходе эксперимента были получены две аддитивные композиции: ванилин + кверцетина гидрат и ванилин + 7-гидроксикумарин, причем первая из названных композиций обладала супераддитивным эффектом в отношении QS *C. subtsugae* ATCC 31532, превосходящим контрольные значения EC50 в 1,5 - 10 раз. На этом фоне, вторая композиция характеризовалась аддитивным действием, активность которого была выше в 1,2 - 4 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, полученные результаты исследования открывают возможность использования выявленных композиций в качестве основных компонентов кандидатных препаратов для борьбы с бактериальными патогенами, использующими QS для реализации своего патогенного потенциала.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-16-00036).*

# ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ЛИНИИ HCT-15 И MCF-7 К ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ПРЕПАРАТАМ ПАКЛИТАКСЕЛ И ЦИСПЛАТИН НА МОДЕЛИ СФЕРОИДОВ

***К. О. Исаева, З. Е. Гилазиева, И. Ю. Филин, К. В. Китаева, В. В. Соловьева, А. А. Ризванов***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*twtdtl2001@mail.ru*

Многоклеточные сфероиды – один из типов трехмерной модели, обладающих клеточной зональностью, тесным физическим взаимодействием между клетками и внеклеточным матриксом, что сближает их с естественной опухолью. Целью работы являлось сравнение устойчивости сфероидных и 2D моделей клеток линий HCT-15 и MCF-7 к препаратам цисплатин и паклитаксел.

Клетки колоректальной карциномы HCT-15 культивировали в среде α–MEM (ПанЭко), клетки аденокарциномы протоков молочной железы MCF-7 в среде RPMI-1640 (ПанЭко). Сфероиды линии HCT-15 были созданы методом «висячая капля», сфероиды клеток линии MCF-7 – в суспензии. После двух суток культивирования клеток в среду вносили противоопухолевые препараты цисплатин-ЛЭНС (ООО Лэнс-Фарм, Россия) и паклитаксел-ЛЭНС (ООО Лэнс-Фарм, Россия) в концентрациях 20 мкг/мл, 30 мкг/мл и 40 мкг/мл. Через 48 часов инкубирования клеток линии HCT-15 цитотоксическую активность противоопухолевых препаратов оценивали набором FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit with PI (Bio Legend, США) при помощи проточной цитофлуориметрии. Устойчивость клеток линии MCF-7 оценивали проведением MTS-теста (Sigma, США).

Пролиферативная активность клеток MCF-7 в монослойной культуре относительно контроля снижалась на 54,53%, 59,1%, 67,6% при концентрациях цисплатина 20 мкг/мл, 30 мкг/мл и 40 мкг/мл и на 78,3%, 77,8%, 78,54% при добавлении паклитаксела. Выживаемость клеток MCF-7, культивируемых в сфероидах с цисплатином снижалась на 46,38%, 51,91%, 53,89% и при культивировании с паклитакселом на 30,55%, 43,55%, 42,3% соответственно.

Пролиферативная активность клеток HCT-15 в монослойной культуре при культивировании с цисплатином снижалась на 60,85%, 62,45% и 68,45% при соответствующих концентрациях, культивирование с паклитакселом дало 100% смертность клеток при всех концентрациях. При этом выживаемость клеток, культивируемых в сфероидах с цисплатином, снижалась на 38,3%, 48,0%, 57,7% и в случае культивирования с паклитакселом на 13,00%, 35,60%, 84,85% соответственно.

Сфероидные модели показали большую устойчивость к противоопухолевым препаратам, чем 2D культура и могут служить более достоверной моделью для проведения доклинических исследований.

*Работа поддержана грантом РНФ №21-74-10021.*

# АПРОБАЦИЯ АЛГОРИТМОВ СЕГМЕНТАЦИИ ЦИФРОВОЙ МОДЕЛИ ГОРОДСКОЙ ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА ПРИМЕРЕ КАМПУСА ННГУ

***Н. А. Исайкин*, *В. Н. Якимов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*aseout@gmail.com*

Зеленые насаждения являются неотъемлемой частью городской среды, предоставляя населению экосистемные услуги – они поддерживают городской микроклимат, снижают уровень атмосферного и шумового загрязнения и т.д. Для количественной оценки вклада городских лесов в формирование комфортной окружающей среды необходимы достаточно подробные данные о количестве и состоянии деревьев, которые требуют выполнения трудоемких полевых обследований. Использование беспилотных воздушных судов (БВС) для изучения объектов растительности урбанизированных территорий может значительно сократить время получения полевых данных. Комбинация методов дистанционного зондирования и полевой инвентаризации может позволить выявить определенные закономерности, раскрывающие отношение данных подходов в аспекте взаимозаменяемости.

Целью работы являлась разработка методики сегментирования фотограмметрических продуктов аэрофотосъемки для алгоритмического выявления крон деревьев.

Материалом для исследования послужили данные полевой инвентаризации древесно-кустарниковой растительности кампуса ННГУ, а также результаты аэрофотосъемки, выполненной 13 июля 2022 г. с помощью БВС DJI P4 Multispectral. Было проведено три вылета на высоте 100 метров и получено 4914 фотографий, которые были подвергнуты процедуре фотограмметрической обработки в ПО WebODM с последующей реконструкцией облаков точек, цифровых моделей поверхности и рельефа, а также ортофотопланов.

Дальнейшая обработка материалов проводилась в среде R с использованием пакетов rLiDAR и ForestTools. Путем комбинирования цифровой модели поверхности и цифровой модели рельефа была создана модель высот древесного полога, которая далее была фрагментирована с помощью алгоритма сегментации водоразделов, контролируемого маркерами. Результатом сегментации является совокупность распознанных крон деревьев в форме двумерных полигонов. Алгоритм сегментации подразумевает тонкую настройку 4 параметров, для каждого из которых было выбрано 5 значений, полное число комбинаций составило 625. Оценка качества проведенной сегментации выполнялась путем сопоставления с данными инвентаризации.

Несмотря на то, что часть зеленых насаждений кампуса ННГУ находится под пологом более высоких деревьев, удалось добиться точности распознавания древесно-кустарниковой растительности в 41.5%, что сопоставимо с результатами аналогичных исследований, проведенных в Дрездене, Памплоне, Ханчжоу и других городах.

Таким образом, была разработана и апробирована система сегментации оцифрованных моделей растительности и оценки ее качества, основанной на сопоставлении результатов работы алгоритмов с данными полевых исследований, что наряду с перспективами совершенствования самой методики открывает возможности внедрения механизмов машинного обучения для оценки экосистемных услуг.

*При поддержке Программы стратегического академического лидерства "Приоритет 2030" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект Н-476-99_2021-2023).*

# ИЗУЧЕНИЕ БИОЦЕНОТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА

***К. В. Исакова***
Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН, 185030, Петрозаводск, просп. Александра Невского, 50; *Ksusha_isakova@mail.ru*

Онежское озеро – это гетерогенный водоем, с большими перепадами глубин, изрезанностью береговой линии и с разной степенью антропогенного воздействия. В биоценозе, в сложившихся условиях среды, его компоненты объединены обменом веществ и энергией. Выявление однородных районов со своей внутренней спецификой и своеобразным биоценозом очень важно для оценки и прогноза состояния экосистемы Онежского озера. Цель исследования состоит в районировании акватории Онежского озера по гидробиологическим показателям.

В работе использовался метод нейронных сетей, который позволяет объяснить выбранную изучаемую переменную, рассчитывая ее теоретическое значение с помощью множества других переменных.

В нашей работе входными величинами выступали «биомасса зообентоса» как показатель инерционных свойств акватории, и «концентрация хлорофилла а, как показатель быстрого ответа на изменение окружающей среды. В качестве объясняющих переменных использовались биотические (биомасса бактериопланктона, фитопланктона, зоопланктона, содержание хлорофилла а, первичная продукция) и абиотические показатели среды (глубина и температура на поверхности и в толще воды в разные сезоны). Исходные данные были получены сотрудниками лаборатории гидробиологии ИВПС КарНЦ РАН за период с 1982 по 2021 гг. на серии из 363 станций, расположенных в разных частях Онежского озера. Эти данные были усреднены по 142 круговым ячейкам (d=10 км), покрывающих всю акваторию. В работе использовались пакет настольной картографии QGIS, программа географического анализа SAGA и язык программирования и статистического анализа R.

Для прогноза биомассы бентоса и концентрации хлорофилла *а* строились по две нейронные сети (персептрон) с одним скрытым слоем для каждого показателя, отдельно по биотическим и по абиотическим факторам среды. Оказалось, что лучший прогноз биомассы зообентоса дает сеть, настроенная по абиотическим показателям (корреляция с исходными данными составила r = 0.87), которая выявляет реакцию макрозообентоса на влияние глубины и температуры воды на дне озера.

Значения концентрации хлорофилла *а* хорошо предсказываются как по биотическим, так и по абиотическим показателям. Корреляции между реальностью и прогнозами достигают уровня r = 0,8. Содержание хлорофилла *а* в Онежском озере связано с развитием фитопланктона, который в свою очередь связан с температурой воды, определяющей его сезонное развитие.

На основе распределения рассчитанных показателей были выявлены районы Онежского озера – северная, серединная и южная части Повенецкого залива, Петрозаводская Кондопожская, Лижемская, Уницкая и Свирская губы, прибрежная восточная и прибрежная западная акватории, центральная и южная часть озера.

*Работа выполнена в рамках темы Госзадания № 0185-2021-0007 Института водных проблем Севера КарНЦ РАН.*

# КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И АНТИБИОТИКА НА БАКТЕРИИ *ALCANIVORAX BORKUMENSIS*

***Л. И. Искужина*, *Э. В. Рожина***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*Iskuzhina.l@yandex.ru*

В настоящее время проблема устойчивости бактерий к антибиотикам стоит весьма остро, поэтому эффективной альтернативой могут выступить наночастицы серебра, которые проявляют замечательную антимикробную активность даже при низкой концентрации. Синтезируя наночастицы благородных металлов биологическими методами, стабилизирующий агент на их поверхности будет иметь свойства биокомпонента, используемого для их получения. Так, при использовании организмов с полезными функциональными метаболитами, можно придать наночастицам дополнительные свойства.

Серебряные наночастицы обладают определенным антибактериальным эффектом, но нельзя исключать появления устойчивости у бактерий, аналогичной резистентности к антибиотикам. В результате возникла потребность в поиске возможностей сочетания антимикробного действия различных средств для синергического эффекта.

В качестве удобного модельного объекта, а также для разнообразия знаний об антибактериальной активности, в работе были использованы нетривиальные бактерии *Alcanivorax borkumensis*. Биогенные наночастицы серебра синтезировали с помощью мха *Sphagnum fallax*, бактерицидные свойства которого хорошо известны с давних времен. В результате проверки диско-диффузионным методом, самым действенным антибиотиком против бактерии *A. borkumensis* оказался цефтриаксон, он и был выбран для исследования. Оценка антибактериальной активности проводилась с помощью построения кривых роста на протяжении 48 часов. Для серебряных наночастиц были взяты концентрации от 0,25 до 100 мкг/мл, для цефтриаксона от 0,1 до 10 мкг/мл.

Было установлено, что при концентрациях от 0,25 до 2 мкг/мл серебряные наночастицы не имеют ингибирующего эффекта, при 2,5 мкг/мл ингибирование действует первые 25 часов, после чего идет усиленный рост, эффект же полного ингибирования наночастицами мы наблюдали от 5 мкг/мл. Дозозависимая эффективность цефтриаксона оказалась схожей и наблюдалась от 5 мкг/мл. При совместном использовании агентов угнетение роста происходило даже на самых малых концентрациях, незначительный эффект наблюдался уже при 0,1 мкг/мл цефтриаксона + 0,25 мкг/мл наночастиц, который полностью отсутствовал при их отдельном использовании. С увеличением концентраций как антибиотика, так и наночастиц ингибирование усиливалось.

Проблема мультирезистентности остается актуальной уже многие годы и данные исследования могут внести определенный вклад в ее решение.

*Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, № 21-74-10034.*

# АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ ФЕНОЛЬНОГО СИНТЕЗА В ЛИСТЬЯХ И СУСПЕНЗИОННЫХ КЛЕТКАХ ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ

***А. А. Исмаилова*, Т. А. Здобнова, Д. А. Рыбин, Е. В. Березина, А. А. Брилкина**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*alinaismailova2000@bk.ru*

Голубика щитковая (*Vaccinium corymbosum*) представитель семейства Вересковые является перспективным растением для промышленного получения фенольных соединений (ФС) из-за высоко содержания флавоноидов и проантоцианидинов. Данные вторичные метаболиты можно получать из листьев и ягод растений, но наиболее экономически выгодным считается биотехнологический объект – суспензионные клетки. Для оценки уровня ФС при выявлении наиболее продуктивных культур, помимо определения количества фенольных соединений целесообразно проводить анализ экспрессии генов ферментов фенольного синтеза, в первую очередь фенилаланинаммиаклиазы (PAL) и халконсинтазы (CHS). Целью работы являлось изучение экспрессии генов ферментов фенольного синтеза у листьев и суспензионных клеток голубики щитковой в сравнении с количественным определением ФС.

В работе были использованы листья маточных растений *V. corymbosum*, культивируемых в лабораторных условиях (16-часовой фотопериод, 22 оС). Суспензионные клетки были инициированы из микрорастений *in vitro* через стадию каллусов и культивировались на среде WPM с концентраций фитогормонов 0,5/0,5 мг/л 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота)/БАП (бензилоаминопурин). Анализ накопления фенольных соединений в листьях и суспензионных клетках проводился по методикам Запрометова (1971) для суммы растворимых фенольных соединений (СРФС) и катехинов (Кат), Gunes, Liu, Watkins (2002) для флавоноидов (Фл) и Хишовой (2006) для проантоцианидинов (Про). Для изучения экспрессии генов использовался метод ПЦР в реальном времени, а именно изменение относительной экспрессии рассчитывали по методике: $RQ=2^{-\Delta\Delta Ct}$. В качестве референсного гена использовался β-актин (ACTB).

По содержанию СРФС и суммы Фл суспензионные клетки голубики опережали листья СРФС – 300 и 250; Фл – 250 и 180 мг/г сухой массы соответственно. Уровень Кат (45-50 мг/г сухой массы) и Про (65-75 мг/г сухой массы) у суспензионных клеток и листьев был примерно одинаков.

Проведенный анализ экспрессии генов ферментов фенольного синтеза показал: экспрессия CHS в суспензиях увеличена в 14 раз, по сравнению с листьями, что сопоставимо с повышенным содержанием флавоноидов в суспензионных клетках. Экспрессия PAL напротив оказалась снижена в суспензионных клетках голубики щитковой в 22 раза по отношению к таковой в листьях.

Таким образом, согласно анализу экспрессии генов ферментов фенольного синтеза активность халконсинтазы в суспензионных клетках выше по сравнению с листьями, что способствует большему накоплению как фенольных соединений в целом, так и суммы флавоноидов.

*Работа поддержана грантом РНФ, соглашение 23-24-00403.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СПОСОБНЫХ К ГЕНЕРАЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА

***З. И. Исхакова*[1], *Д. Э. Журавлева*[1], *Ж. Н. Ахметова*[1], *А. А. Ксенофонтов*[2], *А. Р. Каюмов*[1]**
[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*zalinunya@mail.ru*
[2]Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, 153045, Иваново, ул. Академическая, 1

Устойчивость бактерий к противомикробным препаратам представляет собой проблему, связанную с высокой заболеваемостью и смертностью. Это связано с нехваткой эффективных методов лечения инфекций, вызванных микроорганизмами с лекарственной устойчивостью и сложностью открытия принципиально иных вариантов антимикробных веществ и альтернативных методов лечения. Одним из таких подходов стал синтез антибактериальных веществ со способностью к генерации синглетного кислорода, которые фотоиндуцируют активные формы кислорода. Фототерапия считается одним из наиболее перспективных методов лечения бактериальных инфекций благодаря преимуществам высокой эффективности, низкой токсичности и отсутствию лекарственной устойчивости. Сотрудниками Института химии растворов Российской академии наук было синтезировано 11 различных по своей структуре веществ, обладающих способностью к генерации синглетного кислорода, которые проявляют свою активность против микроорганизмов после активации их белым светом. Активность данных веществ была проверена в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* методом оценки жизнеспособности клеток с помощью подсчета КОЕ. Соединения под кодовыми номерами 38, 41, 42, 44 и 47 обладали антимикробным действием против *S. aureus* ATCC 29213, тогда как в отношении *E. coli* ни одно из исследуемых соединений не оказало никакого эффекта. Активность соединений-лидеров оценивали на расширенном спектре тест-микроорганизмов (*Acinetobacter baumannii, S. aureus* MRSA, *Streptococcus sobrinus, Bacillus subtilis* 168). Установлено, что соединение 42 обладало антимикробным действием против всех используемых тестерных штаммов, а соединение 38 проявляло активность в отношении всех штаммов, за исключением *S. sobrinus*. Соединение 41 приводило к гибели микроорганизмов не зависимо от активации вещества, что вероятно свидетельствует о его токсичности. С другой стороны, подобный эффект может быть обусловлен необходимостью оптимизации условий проведения эксперимента, и для активации вещества достаточно остаточного света. Соединения 44 и 47 не показали свою активность против штаммов расширенного спектра.

*Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Мегагрант № 075-15-2021-579 (синтез веществ) и средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, Проект № FZSM-2022-0017 (Биоактивность).*

# ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЕМ ЦИТОКИНОВ В ВЕНОЗНОЙ КРОВИ И ПАРАМЕТРАМИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ В СОСТОЯНИИ ОТНОСИТЕЛЬНОГО ПОКОЯ У ТРЕНИРОВАННЫХ И НЕТРЕНИРОВАННЫХ ЛИЦ

***А. В. Кабачкова*, *А. Н. Захарова***
Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*avkabachkova@gmail.com*

Для анализа взаимосвязи между уровнем цитокинов (IL-6, 8, 15 и eNOS) в венозной крови и параметрами церебральной гемодинамики был использован корреляционный анализ. Величина коэффициентов корреляции позволила ранжировать связи по силе. В работе были выделены сильные или очень сильные связи. При анализе результатов оценки таких связей в наблюдаемых группах (здоровые нетренированные волонтеры; здоровые тренированные волонтеры, занимающиеся пауэрлифтингом (статическая нагрузка) и легкой атлетикой (динамическая нагрузка)) в состоянии относительного покоя большего всего связей, обладающих очень высокой силой, отмечается среди нетренированных лиц. Вероятно наличие регулярных физических нагрузок различной направленности отражается на системе цитокинов, тем более что эти цитокины могут синтезироваться непосредственно скелетными мышцами. Например, чем выше уровень IL-6 в состоянии относительного покоя, тем ниже тонус артериол каротидного бассейна в правом полушарии и лучше венозный отток в вертебробазилярном бассейне в левом полушарии. В то же время чем ниже уровень eNOS, тем лучше венозный отток, а также ниже тонус сосудов распределения в вертебробазилярном бассейне в левом полушарии. Таким образом IL-6 и eNOS связаны преимущественно с состоянием венозного русла вертебробазилярного бассейна. Помимо этого, выявлены сильные корреляционные связи между параметрами церебрального кровотока в каротидном бассейне и другими интерлейкинами (с IL-15 прямые связи, с IL-8 – обратная). Так, чем выше уровень IL-15, тем хуже венозный отток в одном полушарии и лучше объемный кровоток в другом. А также чем выше уровень IL-8, тем более снижен тонус венул. Преобладание регулярных статических нагрузок отразилось на уровне цитокинов, которые в среднем выше аналогичных уровней у нетренированных. Например, чем выше уровень IL-8, тем выше тонус сосудов распределения в каротидном бассейне в левом полушарии. А высокий уровень IL-6 связана со снижением тонуса сосудов распределения и увеличением кровенаполнения в вертебробазилярном бассейне в правом полушарии. Высокая концентрация eNOS (практически в пять раз больше по сравнению с нетренированными) отражает значимую стимуляцию эндотелия, что отражается на снижение тонуса сосудов распределения в вертебробазилярном бассейне. Преобладание регулярных динамических нагрузок отразилось на уровне цитокинов, хотя не столь сильно как в случае статических нагрузок. При этом сильные корреляционные связи выявлены между параметрами церебрального кровотока и такими цитокинами, как IL-6, IL-15 и eNOS.

# АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ИЛИ ПРОЦЕСС ПОИСКА КАНДИДАТНЫХ МОЛЕКУЛ УСТОЙЧИВОСТИ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОРАМ

***Е. А. Казакова*[1], *С. В. Битаришвили*[1], *М. С. Подлуцкий*[1], *В. С. Воронежская*[1], *Я. А. Блинова*[1], *Е. М. Шестерикова*[1], *Д. Д. Бабина*[1], *М. Ю. Подобед*[1], *Е. В. Бондаренко*[1], *А. А. Празян*[1], *Е. С. Макаренко*[1], *П. Ю. Волкова*[1, 2]**

[1]Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Обнинск, Киевское шоссе, 1/1; *elisabethafeb19@gmail.com*

[2]Независимый исследователь, Гел, Бельгия

На сегодняшний день обеспечение стабильного существования природных экосистем в условиях стремительно нарастающего антропогенного загрязнения и неизбежных климатических изменений является крайне важной задачей. Одним из решений этой задачи может стать увеличение устойчивости растительных видов к стрессорам. Анализ реакций стрессового ответа у травянистых растений, произрастающих на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС, а также их потомков позволяет выявлять потенциальные детерминанты устойчивости к абиотическим стрессам.

Для поиска кандидатных молекул устойчивости мы используем мультиомиксный подход в сочетании с изучением биохимических, физиологических и морфологических параметров у ряда растений из зоны отчуждения ЧАЭС. В частности, в результате анализа транскриптома горошка мышиного определены гены, участвующие в адаптации растений к хроническому радиационному воздействию. Функциональный анализ протеома и метаболома растений горошка мышиного, клевера белого и чистотела большого выявил белки и метаболиты, концентрации которых значимо изменялись на радиоактивно загрязненных участках, по сравнению с фоновыми участками. В популяциях ряда травянистых растений показано изменение экспрессии генов, предположительно связанных с устойчивостью к хроническому облучению. Также хроническое радиационное воздействие может влиять на содержание фитогормонов, состояние антиоксидантной и фотосинтетической систем изучаемых растений.

При оценке дифференциальной экспрессии генов у потомков *Arabidopsis thaliana* чернобыльского экотипа установлено, что растения с загрязненных участков менее чувствительны к острому облучению в высокой дозе. Показано наличие функционально значимых однонуклеотидных полиморфизмов у потомков *A. thaliana* из зоны отчуждения. Также оценена устойчивость лабораторных линий потомков *A. thaliana* чернобыльского экотипа к дополнительному острому облучению, гипертермии и действию метилвиологена.

В настоящее время проводится обобщение данных для разных видов растений с выделением наиболее перспективных молекул модулирующих устойчивость Чернобыльских растений к стрессу.

Данные наших исследований могут быть применимы для повышения стрессоустойчивости и продуктивности хозяйственно ценных растений, внедрения растений в системы жизнеобеспечения космических кораблей. Важность пополнения и распространения знаний о механизмах действия как хронических, так и острых абиотических стрессоров на неотъемлемый компонент экосистем – растения неоспорима и с точки зрения понимания человеком последствий возможного ущерба, который может быть нанесен Планете из-за недостатка актуальной научной информации.

*Исследование выполнено за счет гранта РНФ (проект № 20-74-10004).*

# РОЛЬ КОННЕКСИНОВ 43 В НАРУШЕНИЯХ КАЛЬЦИЕВОЙ АКТИВНОСТИ АСТРОЦИТОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА *IN VITRO*

***Е. П. Калинина*, *Е. А. Марасанова*, *М. В. Ведунова*, *Е. В. Митрошина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kalinik.l82@gmail.com*

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространенное нейродегенеративное заболевание, развивающееся преимущественно у пожилых людей. Ее патогенез характеризуется аномальным накоплением β-амилоида (Аβ), к которому приводит последовательное протеолитическое расщепление белка-предшественника амилоида (APP) ферментами β- и γ-секретазой. Олигомеры Аβ накапливаются в паренхиме головного мозга с образованием внеклеточных отложений - амилоидных бляшек.

Помимо нейронов, БА затрагивает клетки глии, в частности астроциты, вызывая развитие реактивного астроглиоза. Астроциты при патологиях ЦНС приобретают реактивный фенотип, характеризующийся функциональными изменениями. Изменяется характер межастроцитарной кальциевой сигнализации, которая во многом зависит от функционального состояния межастроцитарных межклеточных контактов, именуемых щелевыми или гап-контактами (GJ – gap junction). GJ состоят из шести белков - коннексинов (Cx) и обеспечивают межклеточный обмен ионами и молекулами. Глиальные клетки демонстрируют изменения уровня экспрессии коннексинов при различных патологических состояниях. Повышенная экспрессия коннексина при БА ведет к активации гемиканалов и повышению высвобождения глиотрансмиттеров (например, АТФ и глутамата), которые вызывали эксайтотоксичность. Поэтому одним из направлений в изучении патогенеза и поиска потенциальных терапевтических мишеней при БА является исследование как межастроцитарного взаимодействия, так и взаимодействия между нейронами и астроцитами. Целью нашего исследования явилось изучения кальциевой активности в первичных культурах астроцитов при моделировании БА *in vitro.*

Материалом исследования явились первичные культуры гиппокампа головного мозга. Для моделирования амилоидной патологии с 10 дня культивирования (DIV) в культуры добавлялся Аβ 1-42 (InnovaGen, Швеция) в концентрации 3.5 мкМ при каждой замене культуральной среды. Ингибирование Cx43 производилось также при каждой смене среды с 10 DIV с помощью Gap19 (Sigma, Германия) в концентрации 50 мкМ. Регистрация кальциевой активности культур проводилась на 21 DIV с помощью конфокального микроскопа Zeiss LSM 800. В качестве кальциевого сенсора применялся краситель Oregon green 488 AM (ThermoFisher, США).

Показано, что моделирование амилоидоза достоверно снижает параметры коллективной кальциевой динамики первичных культур гиппокампа, в том числе отмечено достоверное снижение уровня корреляции кальциевой динамики между клетками, числа функциональных связей между клетками, числа клеток, в которых регистрируются кальциевые события. При блокаде Cx43 основные параметры коллективной кальциевой динамики были достоверно выше, чем в группе «β-амилоид». Таким образом, блокирование астроцитарных гемиканалов может представлять интерес при разработке стратегий лечения БА.

*Работа выполнена в рамках проекта «Центр фотоники» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022-293.*

# ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ АНТИФРИЗОВ, ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ И БАКТЕРИИ PSEUDOMONAS SYRINGAE НА ПРОЦЕСС ЗАМЕРЗАНИЯ ВОДЫ.

***Г. А. Карандин*, *М. А. Мажорина, Б. С. Мельник***
Институт белка РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 4;
*engels2059@gmail.com*

Белки-антифризы (AFP – Antifreezeprotein) синтезируются различными организмами как средство выживания при отрицательных температурах. По данным литературы, AFP связываются со льдом, предотвращая рост кристаллов. Белки-нуклеаторы, напротив, способствуют образованию льда. Впервые они были обнаружены на поверхности бактерии Pseudomonassyringae, что позволяет этим бактериям инициировать образование зародышей льда при температурах около 0ºС. Подобными свойствами обладают также оксиды некоторых металлов, на их поверхности происходит образование льда при относительно высоких отрицательных температурах.В данной работе проведены эксперименты по замерзанию воды в присутствии белка-антифриза из *Rhagium mordax*, бактерий *Pseudomonas syringae*, а также нескольких оксидов металлов. Среди исследованных нами оксидов металлов обнаружены оксиды, способные повышать температуру возникновения зародышей льда, то есть выступать в роли нуклеаторов при замерзании воды. Получены значения температуры замерзания воды для всех исследованных препаратов и также для смесей, содержащих белок-антифриз и разные нуклеаторы льда. Эти данные свидетельствуют о том, что белки-антифризы могут блокировать действие некоторых нуклеаторов льда.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-14-00268).*

# ВЛИЯНИЕ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ ПЧЕЛИНОЙ ПЕРГИ И МАТОЧНОГО МОЛОЧКА НА ПОКАЗАТЕЛИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА СПОРТСМЕНОВ-ЛЫЖНИКОВ

***А. Ю. Карасева*, *Е. В. Крылова*, *С. В. Щуров***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*arin.rybakova2016@yandex.ru*

Современный спорт предъявляет высокие требования к физической подготовленности спортсменов. Поэтому тренировочный процесс уже невозможно представить без адекватной медико-биологической поддержки, которая с одной стороны осуществляет постоянный контроль состояния организма, а с другой определяет необходимость применения незапрещенных ВАДА фармакологических препаратов и пищевых добавок. Перспективной группой веществ являются препараты на основе продуктов пчеловодства, поскольку они не являются допингом, могут оказывать стимулирующее действие широкого спектра на органы и системы организма и положительно влиять на физическую работоспособность. А среди быстрых, не инвазивных и точных методов, позволяющих оценить функциональные возможности организма, особый интерес представляет метод ВСР.

Цель работы – оценка эффективности применения добавок на основе продуктов пчеловодства (пчелиной перги и маточного молочка) для повышения адаптационного потенциала и физической работоспособности у спортсменов по данным спектрального анализа ВСР.

В исследовании приняло участие 9 спортсменов мужского пола, 14-16 лет, имеющих 1-й взрослый разряд по лыжным гонкам. В ходе эксперимента спортсмены ежедневно в течение 10 суток принимали: группа А - плацебо (мёд в дозе 10 г/сут/чел); группа Б - композицию мёда 10 г/сут/чел и перги 30 г/сут/чел; группа В - композицию мёда 10 г/сут/чел и маточного молочка 400 мг/сут/чел. Для оценки физической подготовленности спортсменов использовался тест Купера (бег в течение 12 мин). Запись кардиоинтервалограммы (КИГ) осуществляли в течение 5 мин до и после выполнения контрольного упражнения за 1 сутки до употребления и на 10 сутки приёма веществ. Анализ КИГ проводили с использованием аппаратно-программного комплекса «Поли-Спектр-Ритм» («Нейрософт», Россия). Обработку результатов производили с помощью программ Microsoft Excel 2021 и Statistica 6.1.

Курсовой прием продуктов пчеловодства повысил адаптационную способность миокарда при интенсивных физических нагрузках. В преднагрузочном периоде возросли показатели суммарной мощности спектра (TP) на 7%, 11% и 43%, соответственно, стандартное отклонение NN-интервалов (SDNN) на 5% в группах А, Б и на 40% в группе В. В группе В также статистически значимо увеличился показатель высокочастотных волн (HF) на 16%. Вагосимпатический индекс LF/HF в группах А и В снизился на 31% и 53%. Такая динамика отражает рост парасимпатической активности, благодаря чему обеспечивается рациональная адаптация организма к нагрузкам. Функциональный тест закономерно вызывал напряжение адаптации и усилил активацию симпатического отдела, однако срыва адаптационных механизмов не произошло. Данные результаты свидетельствуют о широких перспективах расширения использования продуктов пчеловодства и метода ВСР в спортивной медицине.

# ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО СТРЕССА НА СЕРОТОНИНОВУЮ СИСТЕМУ В МОДЕЛИ ДЕПРЕССИВНОГО РАССТРОЙСТВА

***Е. А. Карпенко*, А. М. Кубарева, А. Д. Перенков, Е. В. Митрошина**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*katya.karpenko.2019@mail.ru*

Депрессия – психическое расстройство, характеризующееся подавленным состоянием, тревогой, апатией. В современном мире это заболевание встречается всё чаще. Депрессивные расстройства ухудшают качество жизни пациентов, в тяжелых случаях приводят к суицидальным попыткам. Это делает исследование молекулярных механизмов депрессивных расстройств актуальной темой. Основным триггером для развития депрессии служит стресс. Важную роль в реакции нервной системы на стресс играют серотониновые рецепторы. Большой интерес исследователей вызывают рецепторы серотонина 4 и 7 типа, однако их роль в патогенезе депрессивных расстройств остается недостаточно изученной. Поэтому целью нашей работы послужило изучить влияние хронического непредсказуемого стресса (ХНС) на серотонинергическую систему мышей.

Объектом исследования явились мыши линии C57BL/6. Животные были случайным образом разделены на три группы: контрольную (интактные животные) и группы с моделированием 14-дневного и 21-дневного ХНС. Число животных составило 10 в каждой группе. В качестве стрессоров использовались следующие факторы, предъявляемые животным ежедневно в случайном порядке: депривация питания на 8 ч., иммобилизация на 1 ч., плавание в холодной воде 3 минуты, наклон клеток на 8 ч., белый шум (100 дБ) на 1 ч., влажный подстил на 8 ч., изменение светового режима на 3 ч. По завершению моделирования ХСН выполнялось тестирование животных в тесте «открытое поле» и тестирование на предпочтение сахарозы. Для оценки воздействия стресса на серотонинергическую систему проводилось исследование экспрессии мРНК серотониновых рецепторов 5-HT4 и 5-HT7 методом ПЦР-РВ анализа.

Выявлены поведенческие изменения у животных, индуцированные мягким ХНС. Тест «открытое поле» показал изменение характера двигательной активности - животные, перенесшие стресс, стали больше перемещаться на периферии арены, нежели в центре. У группы «14-дневный стресс» было достоверно снижено число стоек, у группы «21-дневный стресс», их число напротив выросло в сравнении с контрольной группой мышей, что говорит о нарушениях исследовательской активности. Тест на предпочтение сахарозы продемонстрировал, что после моделирования ХНС животные не делали предпочтений между обычной и сладкой водой, что говорит о формировании ангедонистического поведения - одного из главных симптомов депрессивных расстройств. Анализ экспрессии мРНК серотониновых рецепторов показал, что мягкий ХНС приводил к достоверному снижению экспрессии генов, кодирующих рецепторы 5HT4-R, 5HT7-R во всех исследованных структурах головного мозга (кора, гиппокамп, мозжечок) относительно контрольной группы. Таким образом, это свидетельствует о важной роли серотониновых рецепторов 5-HT4 и 5-HT7 в развитии депрессивно-подобного поведения.

*Работа выполнена в рамках гранта РНФ №22-15-00178.*

# ДВУХЭТАПНОЕ ТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ТАРГЕТНОЙ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА КЛЕТКИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ *IN VITRO*

***М. А. Карпова*[1], *Л. В. Крылова*[1], *Е. Л. Гурьев*[1], *С. М. Деев*[2, 3], *И. В. Балалаева*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*mashamasha8159@gmail.com*

[2]Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

[3]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

Возможности монотерапии злокачественных новообразований ограничены низкой эффективностью и высоким риском развития лекарственной устойчивости. Ее альтернативой является комбинированная противоопухолевая терапия, которая включает сразу несколько токсических агентов с различными механизмами действия. Частный случай комбинированной терапии – совместное применение фотодинамической терапии и таргетных препаратов.

Целью исследования была оценка двухэтапного токсического воздействия рекомбинантного токсина DARPinLoPE и фотодитазина на клетки аденокарциномы молочной железы *in vitro*. Адресный токсин DARPin-LoPE имеет в своем составе два модуля: направляющий HER2-специфичный белок из группы дарпинов, обеспечивающий таргетную доставку комплекса, и фрагмент экзотоксина А *Pseudomonas aeruginosa* (LoPE), ответственный за цитотоксический эффект. В качестве фотодинамического агента использовался фотодитазин (ООО «Вета-Гранд», Россия), представляющий собой бис-N-метилглюкаминовую соль хлорина е6.

Для работы *in vitro* были выбраны культуры клеток аденокарциномы молочной железы человека SK-BR-3 и MDA-MB-231, обладающие высоким и низким уровнями экспрессии рецептора HER2 соответственно. Влияние исследуемых соединений на жизнеспособность клеточных культур оценивали с помощью МТТ-теста. Цитотоксичность DARPin-LoPE оценивали спустя 48 часов инкубации. Оценка фотодинамической активности фотодитазина проводилась после 4 часов инкубации и последующего облучения в дозе 20 Дж/см$^2$ в спектральном диапазоне 655-675 нм. Для реализации сочетанного воздействия клетки инкубировали в течение 48 часов с DARPin-LoPE, затем добавляли фотодитазин, инкубировали 4 часа и облучали.

Было установлено, что DARPin-LoPE высокотоксичен для линии SK-BR-3 и оказывает свое влияние в пикомолярных концентрациях. Клетки MDA-MB-231 оказались в тысячу раз менее чувствительными к токсину. Все это обусловлено различными уровнями экспрессии целевого рецептора. Для фотодитазина показано, что он вызывает фотоиндуцированную гибель клеток обеих культур в микромолярных концентрациях. При последовательном добавлении исследуемых соединений к клеткам культуры SK-BR-3 в дозах, соответствующих IC50, относительная жизнеспособность клеток не превышала 10%. Для определения типа лекарственного взаимодействия веществ были сопоставлены кривые их токсичности при монотерапии и комбинированном использовании. Значение комбинаторного индекса (CI) 0,07 указывает на высокий синергический эффект.

Полученные данные свидетельствуют о значительном синергическом увеличении цитотоксического эффекта при последовательном применении DARPin-LoPE и фотодитазина, что делает этот подход перспективным в качестве комбинированной противоопухолевой терапии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (код проекта FSWR-2023-0032).*

# ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА РАЗНЫХ ОРГАНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНОСТИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

***М. Ю. Карпушин*, А. Д. Поспелов, Т. А. Здобнова, С. Д. Гефтер, А. А. Соколов, И. В. Балалаева**

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*karpushin01mihail@gmail.com*

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – процесс морфогенеза, в ходе которого эпителиальные клетки приобретают мезенхимальный фенотип. Усиление мезенхимального фенотипа приводит к увеличению адаптивных и инвазивных возможностей опухолевых клеток, что приводит к более агрессивному поведению клеток и развитию резистентности к терапии. На ЭМП может оказывать влияние ряд факторов, важнейший из которых опухолевое микроокружение. В настоящее время, большое внимание уделяется такому участнику микроокружения как внеклеточный матрикс (ВКМ). В связи с его комплексным участием в жизнедеятельности клеток, модели на основе децеллюляризированого (ДЦЛ) матрикса представляются перспективными для исследований влияния ВКМ на ЭМП.

Цель работы − изучение влияния ДЦЛ матриксов различных органов на экспрессию в опухолевых клетках генов белков, вовлеченных в регуляцию ЭМП и взаимодействие клеток с матриксом.

Объект исследования – клетки рака молочной железы человека линии MDA-MB-231. Для получения ДЦЛ матриксов органы мыши линии Balb/c последовательно выдерживали в растворах Triton X-100, SDS и SDC для элиминации клеток, затем полученные матриксы были отмыты от детергентов и насыщены питательными веществами путем инкубации в культуральной среде. Для рецеллюляризации ДЦЛ матриксы помещали в лунки низкоадгезивного планшета, после чего в каждый образец вкалывали суспензию клеток и инкубировали на шейкере в $CO_2$-инкубаторе в течении 2 недель. Экспрессию целевых генов оценивали методом ПЦР в реальном времени. Для сравнения были проанализированы аналогичные показатели для клеток, выращенных в стандартной монослойной культуре.

Показано, что экспрессия генов, регулирующих фенотип опухолевых клеток и взаимодействие с ВКМ, у клеток, выращенных в ДЦЛ-матриксах, выше, чем у клеток в монослойной культуре. Через неделю культивирования усиливается экспрессия таких генов-регуляторов ЭМП, как SNAIL, SLUG, NOTCH-1, что может быть обусловлено адаптацией клеток в новом для них микроокружении. Ещё через неделю наиболее значительная активация наблюдается для генов, влияющих на инвазию, включая DDR1, ITGB-1, MMP9. Это изменение может быть связано с ростом популяции клеток, что приводит к усилению подвижности клеток в поисках свободного пространства. Были выявлены тканеспецифичные особенности экспрессии: максимальное увеличение уровня экспрессии для генов MMP9, SNAIL и DDR-1 было показано для матриксов лёгких, печени и почек.

Можно сделать вывод, что ВКМ стимулирует сдвиг ЭМП опухолевых клеток в сторону более мезенхимального фенотипа по сравнению со стандартной 2D моделью. Важно отметить, что создаваемая модель обеспечивает тканеспецифичный ответ клеток, что может свидетельствовать о её релевантности и применимости в дальнейших исследованиях об участии ВКМ в процессах опухолевого развития.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (код проекта FSWR-2023-0032).*

# ИЗУЧЕНЕ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОДХОДОВ ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ

***Д. А. Карчков*, Р. О. Смирнов, А. В. Рыбкин, Е. Е. Котихина, В. А. Москаленко, Л. А. Смирнов***

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*karchkov.denis@mail.ru*

Сердечно-сосудистые заболевания являются первой причиной смертности населения в мире. Развитие глубоких нейронных сетей может существенно повысить эффективность электрофизиологических методов изучения работы сердца, в частности, при обработке электрических сигналов, зарегистрированных в миокарде. Для описания частотных и пространственно-временных характеристик биоэлектрической активности миокарда необходимо выявления моментов активации на электрограмме. Автоматизация данного процесса не только способна существенно сократить временные затраты на обработку полученных результатов, но и повысить его эффективность за счет исключения ошибок, вызванных человеческим фактором. Разработанные для анализа электрограмм биоэлектрической активности сердца алгоритмы могут быть адаптированы к широкому спектру аналогичных данных, которые получают исследователи в электрофизиологических лабораториях по всему миру.

Цель работы заключалась в написании и обучении глубокой нейронной сети, способной видеть моменты активации на электрограмме, полученной при регистрации биоэлектрической активности изолированного сердца крысы микроэлектродными матрицами с поверхности эпикарда.

Материалы и методы. Сердца наркотизированных (изофлуран) белых аутбредных крыс подвергали гравитационной ретроградной перфузии раствором Кребса-Хензелейта (NaCl 118, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2, $MgSO_4$ 1.2, $KH_2PO_4$ 1.2, $NaHCO_3$ 20, глюкоза 10 моль/л, pH=7.36) при температуре 36,6°C, давлении 90 см водного столба и барботировании карбогеном ($O_2$ - 95%, $CO_2$ – 5%). Биоэлектрическая активность сердца регистрировалась с помощью системы гибких микроэлектродных матриц (MEAFlex72, Multichannel systems, Германия).

Разработанный подход заключается в определении окрестности момента активации на электрограмме и последующем уточнении нужной координаты с помощью численного нахождения минимальной первой производной. Определение окрестности является задачей сегментации, поэтому в качестве модели глубокой нейронной сети использовался UNet.

По итогу проведенных исследований была автоматизирована идентификация моментов активации миокарда на электрограмме. Получилось определить окрестности моментов активации со следующим результатом: precision = 0.949, recall = 0.960. Разработанный аналитический подход позволит значительно повысить эффективность обработки экспериментальных данных и увеличить выбор исследуемых электрофизиологических параметров при изучении работы изолированного сердца методом микроэлектродного картирования.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, проект № 0729-2021-013.*

# МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ ДИНАМИКИ КАЛЬЦИЯ В АСТРОЦИТАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ АВТОМАТОВ

***А. А. Кашина*[1], *С. Ю. Маковкин*[1], *М. И. Кривоносов*[1, 2], *Д. А. Ладейнов*[1]**
[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kashina.anastasia.a@yandex.ru*
[2]Институт системного программирования им. В.П. Иванникова РАН, 109004, Москва, ул. Александра Солженицына, 25

Понимание механизмов обработки информации в мозге является одной из главных и актуальных проблем современной науки. Астроциты регулируют обработку нейрональной информации с помощью изменения концентрации ионов кальция. Несмотря на обширные экспериментальные подходы, недостаточно ясно, каким образом кальций распределяется внутри астроцита. Кальциевые сигналы демонстрируют огромное пространственно-временное разнообразие, механизмы и функции которых недостаточно изучены. Следовательно, создание модели пространственно-временной динамики кальция в астроцитах будет полезно для изучения распространения кальциевых сигналов как внутри отдельной клетки, так и в сети глиальных клеток и, в конечном итоге, для лучшего понимания обработки информации в мозге.

Основной проблемой является решение задачи, связанной с распределением и переносом большого количества вещества внутри клетки – пространственной диффузией со сложными начальными условиями, такая задача не решается в общем виде. Даже небольшое увеличение локальной концентрации кальция увеличивает вероятность открытия кальциевых каналов, тем самым увеличивая вероятность дальнейшего повышения локальной концентрации кальция.

Нетривиальность данной задачи пространственного и временного распределения требует нового подхода, в частности моделирования с использованием клеточных автоматов, что является возможным в связи с существованием компьютеров с высокой степенью параллельности. Клеточные автоматы на данный момент уже широко используются для моделирования диффузионных процессов в изучении и решении нетривиальных проблем гидродинамики.

Целью данной работы является моделирование пространственно-временной динамики кальция в астроцитах с использованием клеточных автоматов.

Были рассмотрены различные алгоритмы для моделирования диффузионных процессов основанные на клеточных автоматах, разработан общий алгоритм для моделирования динамики кальция в отдельных астроцитах. Проведен анализ быстродействия параллельного алгоритма для моделирования двумерной диффузии на системах с разным количеством ядер/потоков и процессоров. Также проведен ряд численных экспериментов, и результат сопоставлен с данными, полученными в лаборатории Института живых систем ННГУ и в лаборатории Института нейрофизиологии в Ганновере, наблюдается хорошее качественное совпадение.

Итоговым результатом этой работы является компьютерная программа на языке C++, принимающая в качестве исходных данных начальные распределения ионов кальция в астроците, пространственные ограничения и карту с источниками кальция. С помощью программы можно моделировать различные кальциевые события и получать пространственно-временные характеристики в виде матриц концентраций в текстовой форме, которые в дальнейшем могут быть преобразованы в изображения и видео.

# ПЕРВЫЙ СЛУЧАЙ ВЫДЕЛЕНИЯ ДВУХ ШТАММОВ *AEROMONAS* У МЫШЕЙ РОДА *APODEMUS*

***Д. Д. Кашина*, *П. А. Андриянов*, *А. И. Тютрина*, *А. Н. Меньшикова***
ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*dasha.kashina99@mail.ru*

*Aeromonas* spp. - грамотрицательные палочки, часто выделяющихся из водной среды, ассоциирующиеся с инфекциями у водных, наземных животных, а также у людей. В данном исследовании впервые выделены и охарактеризованы два вида *Aeromonas* spp. из внутренних органов внешне здоровых диких грызунов *Apodemus uralensis* и *A. flavicollis*, отловленных в дикой природе в европейской части России. Целью настоящей работы была молекулярно-генетическая идентификация, и оценка спектра чувствительности штаммов *Aeromonas* spp. к клинически актуальным антибиотикам.

Изолят М-2 выделен из селезенки *Apodemus uralensis* с помощью бульонной основы PSB и дальнейшего культивирования на CIN-агаре. Изолят М-30 был выделен из легких *Apodemus flavicollis* с помощью бульона BPW и дальнейшего культивирования на XLD-агаре. Исследуемые изоляты имели морфологию грамотрицательных палочек, обладали каталаза- и оксидаза-положительным фенотипами. ДНК выделяли из суточных культур используя набор ДНК-сорб-В. ПЦР проводили с помощью универсальных праймеров (27F и 1492R). Целевые ампликоны были очищены и секвенированы. Консенсус, собранный из полученных чтений, был сравнен с референтными последовательностями базы данных EZBioCloud. Изоляты М-2 и М-30 были идентифицированы как *A. aquatica/A. encheleia/A. media* соответственно. Мультилокусный анализ последовательности (MLSA) проведен на основе 5 локусов (groL, gltA, metG, ppsA и recA). Кладограмма, построенная на основе выравнивания локусов показала, что изолят М-2 образует одну монофилетическую группу с *A. encheleia*, тогда как изолят М-30 образовал одну филогенетическую группу со штаммами *A. hydrophila*. Оценку спектра чувствительности изолятов к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом (EUCAST 2022). Анализ на чувствительность к антибиотикам показал, что оба изолята *Aeromonas* были устойчивы к карбапенемам и пиперациллин-тазобактаму. *A. hydrophila* М-30 также продемонстрировала устойчивость к триметоприму. Изучение гемолиза проводили путем посева культур на 5% кровяной агар. Оба изолята продемонстрировали бета-гемолитическую активность в отношении эритроцитов человека.

Наши результаты расширяют представления о возможных резервуарах аэромонад и потенциально демонстрируют вероятность образования природных очагов инфекции *Aeromonas*, а также нового звена в цепи распространения устойчивости к антибиотикам.

# ВЛИЯНИЕ МИКРОГРАВИТАЦИИ НА МИТОТИЧЕСКИЙ ЦИКЛ И ЧИСЛО АБЕРРАЦИЙ МЕРИСТЕМЫ КОРНЕЙ *ALLIUM CEPA*

***Д. И. Кистенев*, *Е. В. Писарева*, *М. Ю. Власов***

Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, 443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34; *pisarevera@rambler.ru*

Условия изменённой гравитации влияют на устойчивость организмов к появлению хромосомных аберраций и их митотический цикл, однако исследование микрогравитации на околоземной орбите затруднительно. Существуют методы для симуляции условий микрогравитации. Общей практикой стали наземные эксперименты при помощи особых устройств, создающих условия микрогравитации, – 3D-клиностатов.

В настоящей работе образцы анализировались с помощью Allium-теста. Метод основан на изучении параметров развития меристемы лука *Allium cepa*. Этот цитогенетический метод позволяет оценить воздействие условий окружающей среды на митотическую активность растения. В ходе микроскопирования материала он позволяет определить для каждой клетки и фазу клеточного цикла, и наличие аберраций вместе с их характером. В исследовании семена в течение пяти дней проращивали в рулонах из фильтровальной бумаги и полиэтилена в среде реминерализованной воды в термостате при 22°C. На каждый срок нахождения в клиностате и в контроль высаживалось по 50 семян в 2 рулонах. Рулоны загружались в клиностат, где подвергались влиянию микрогравитации на протяжении 4, 8, и 12 часов. Проростки погружались в фиксатор Кларка на сутки, далее переносились в 70% этиловый спирт. Материал окрашивался ацетокармином и микроскопировался.

Для всех клиностатированных образцов было присуще резкое снижение митотического индекса в сравнении с контролем. Митотический индекс четырёхчасовой экспозиции в сравнении с остальными двумя также значимо различался. Различие при восьмичасовой и двенадцатичасовой экспозициях не было значительно. Также подсчитан ана-телофазный индекс, показывающий относительную задержку митотического цикла, и число клеток с аберрациями. Значимых различий для ана-телофазного индекса и для частоты хромосомных аберраций не выявлено. Следовательно, прерывания цикла на любой из стадий не происходит при росте частоты интерфаз, но условия микрогравитации оказывают общеугнетающее действие на темп митотического цикла меристемы.

При общеугнетающем действии микрогравитации на темп митотического цикла, она не имеет влияния на количество хромосомных аберраций и не вызывает прерывания цикла или роста числа хромосомных аберраций.

# АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ГОРОХА ПОД ВЛИЯНИЕМ СЛАБОГО НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ

***В. А. Клепиков*, О. А. Ворохобова, Ю. В. Ракова, Ю. В. Синицына, Н. С. Мшенская**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*vladislav.klepikov01@mail.ru*

Геомагнитное поле является постоянным фактором окружающей среды на Земле. Оно непрерывно воздействует на живые системы, однако до сих пор неизвестны механизмы влияния магнитных полей на живые организмы и, в частности, на растения. Одним из источников геомагнитного поля Земли является грозовая активность, приводящая к образованию квазистоячих электромагнитных волн в полости между поверхностью Земли и ионосферой – резонанса Шумана. Эти волны могут существовать длительное время и, таким образом, влиять на живые организмы. Целью данного исследования было изучение влияния кратковременного воздействия магнитного поля с частотами резонанса Шумана на активность ферментов антиоксидантной системы и изоферментный спектр супероксиддисмутазы (СОД), а также на интенсивность перекисного окисления липидов в горохе.

Объектами исследования являлись 18-дневные растения гороха посевного, сорт Альбумен. Опытные растения обрабатывались магнитным полем с частотами 7,8 Гц; 14,3 Гц; 20,8 Гц (магнитная индукция 18 мкТл). Контрольная группа помещалась в аналогичные условия, с интенсивностью освещения 600-1000 люкс при температуре около 22 ± 1º С, но без воздействия магнитного поля. После окончания получасовой экспозиции определяли активность антиоксидантных ферментов, а именно каталазы, пероксидазы, СОД и изменение ее изоферментного спектра, а также содержание малонового диальдегида (МДА) и гидроперекисей с пересчетом на количество липидов.

Было обнаружено, что при кратковременном воздействии слабых магнитных полей активность каталазы и пероксидазы и содержание МДА и гидроперекисей в основном не менялась. Изоферментный состав СОД в растениях не изменялся, однако наблюдалось изменение активности Mn и Cu-Zn изоформ фермента в опытных образцах по сравнению с контролем.

Таким образом, процессы перекисного окисления липидов гороха слабовосприимчивы к действию слабых низкочастотных магнитных полей Шумановского резонанса. Однако данные поля могут оказывать влияние на активность ферментов антиоксидантной системы, в частности, Mn и Cu-Zn изоформ супероксиддисмутазы, которые наиболее распространены в митохондриях и цитозоле соответственно. Данный эффект может быть связан с повышенной чувствительностью данных органелл растительной клетки к воздействию магнитного поля.

*Работа выполнена при финансировании Министерством науки и высшего образования (соглашение № 075-15-2019-1892).*

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ М-3, М-6, М-22 ПОРЯДКА *ENTEROBACTERALES*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ДИКИХ ГРЫЗУНОВ

***Е. А. Климентьева*[1], *П. А. Журилов*[2], *А. Н. Меньшикова*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kat-nnov10@yandex.ru*

[2]ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3

Несмотря на немалое количество уже известных человечеству видов бактерий, открытие новых видов не перестает быть актуальным. Только на 2022 г. описано около нескольких тысяч видов бактерий. Одной из лидирующих групп микроорганизмов по количеству вновь открытых видов на данный момент является порядок *Enterobacterales*. Открытие новых видов микроорганизмов и их изучение позволит внести ясность о их роли в окружающем мире, а также их распространении. Цель данной работы – изучить исследуемые изоляты бактерий порядка *Enterobacterales*, выделенные из внутренних органов диких грызунов.

Объектами для исследования являлись изоляты М-3, М-6, М-22, выделенные из внутренних органов диких грызунов в ННИВИ - филиала ФГБНУ ФИЦВиМ.

Определяли видовую принадлежность изолятов методом секвенирования последовательности гена 16S рРНК. Последовательность гена 16S рРНК изолята М-3 идентична *Citrobacter freundii* на 98,84%, М-6 - *Morganella morganii* на 98,64% и М-22 - *Serratia fonticola* на 99,52%.

Определение культуральных и морфологических свойств проводили на среде Nutrient agar (NA) (HiMedia, Индия) и Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (XLD) (HiMedia, Индия). Для определения тинкториальных свойств использовали метод окраски бактериальных клеток по Граму. Биохимическую идентификацию изолятов М-3, М-6, М-22 проводили при помощи набора ENTEROtest 24 N (ERBA Lachema, Чехия).

Все исследованные изоляты являлись грамотрицательными кокко-бациллами, расположенными попарно. Изолят М-22 имел характерный для колиформных бактерий рост на среде XLD, изоляты М-3 и М-6 имели характерный рост для неколиформных бактерий. С помощью биохимической идентификации изолят М -22 был идентифицирован как *Serratia fonticola* со 100% идентичностью. М-3 и М-6 не удалось идентифицировать с помощью Enterotest 24N.

Оценку спектра чувствительности исследованных изолятов к антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом. У всех изолятов была обнаружена устойчивость к ампициллину.

Детекцию капсул проводили в темновом поле по методу Бурри-Гинса. Все исследованные изоляты являлись бескапсульными. Фенотипического проявления липазной и лецитиназной активностей также не обнаружено. Определение подвижности культур проводили на полужидком агаре Motility agar (HiMedia, Индия). Изоляты М-6 и М-22 имели подвижность во время культивирования при 22°С, и теряли ее при 37°С.

По результатам определения видовой принадлежности изолятов методом анализа последовательности 16S рРНК гена был сделан вывод, что изолят М-22 являлся *Serratia fonticola*, а М-3 и М-6 являлись новыми видами рода *Citrobacter* и *Morganella* соответственно, порядка *Enterobacterales*.

# ЭКОЛОГО-ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА УГЛЕРОДНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗЕЛЕНЫХ НАСАЖДЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ СОВЕТСКОГО РАЙОНА Г. Н.НОВГОРОДА)

***Т. А. Ковалева, Н. И. Зазнобина, В. Н. Якимов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kovalevataisia79@gmail.com*

Для оценки углеродного потенциала зеленых насаждений были выбраны основной кампус ННГУ им. Н.И. Лобачевского (13,07 га), НИУ РАНХиГС (0,89 га), Приволжский филиал РГУП (0,35 га), территории при 5 средних специальных учебных заведениях (общая площадь – 6,14 га), территории при 5 общеобразовательных школах (общая площадь – 10,19 га). Тотальный учет древесной растительности был выполнен для кампуса ННГУ им. Н.И. Лобачевского согласно международной методике i-Tree. Расчет площадей зеленых насаждений исследуемых территорий проведен с применением модуля i-Tree Canopy на основе метода рандомизации. Оценка запаса и секвестрации углерода древесно-кустарниковой растительностью ННГУ им. Н.И. Лобачевского осуществлены с применением аллометрических уравнений на основе данных о диаметре ствола, высоте дерева и скорости роста. На территории кампуса ННГУ им. Н.И. Лобачевского инвентаризировано 1887 деревьев, относящиеся к 32 видам. Суммарный запас углерода составил 415,781 тонн С, секвестрация углерода – 2,2 т в год. Монетарная оценка запасов углерода в деревьях – 4146,6 тыс. руб., секвестрации углерода – 21,9 тыс. руб. Полученные оценки плотности экстраполированы на территории 5 средних специальных учреждений и территории 5 общеобразовательных школ. Самыми высокими показателями запаса и секвестрации углерода характеризуются Нижегородская школа-интернат для слепых и слабовидящих детей (131,01 тонн С и 0,68 т в год) и МБОУ «Школа №24» (114,8 тонн С и 0,6 т в год). Монетарные оценки запаса углерода – 1306,8 тыс. руб. и 1145, 1 тыс. руб., секвестрации углерода – 6,7 тыс. руб. и 5,9 тыс. руб. Самые низкие показатели запаса и секвестрации углерода получены для территорий Нижегородского музыкального колледжа им. М. А. Балакирева (3,38 тонн С и 0,017 т в год соответственно) и ПФ «Российский государственный университет правосудия» (3,52 тонн С и 0,018 т в год ). Стоимостные оценки запаса углерода – 33,7 тыс. руб. и 35,1 тыс. руб., секвестрации углерода – 169,6 руб. и 179,5 руб. Полученные данные свидетельствуют, что наибольшим углеродным потенциалом обладают школы, поскольку показатель озеленения территорий ограниченного пользования при средних общеобразовательных учреждениях (школах) Советского р-на г. Нижний Новгород соответствует принятым нормативам по озеленению (75% зеленых насаждений от общей площади) согласно «Нормам посадки деревьев и кустарников городских зеленых насаждений». Наименьшим углеродным потенциалом обладают высшие учебные заведения (кроме территории кампуса ННГУ им. Н.И. Лобачевского) и средние специальные учебные заведения. Показатель степени озеленения территорий ограниченного пользования при высших и средних специальных учреждениях Советского р-на г. Нижний Новгород ниже стандартных нормативов (50% зеленых насаждений от общей площади).

# ВЫЯВЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ В РАЗНОМ ВОЗРАСТЕ

***Д. С. Козлов*[1, 2], *Д. П. Крылов*[1, 2], *А. И. Гаврина*[1, 2], *И. Д. Щечкин*[1, 2], *Н. Ю. Григорьева*[2], *Д. С. Кузнецова*[1, 2]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *mail-kozlov2015@yandex.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Сердечно-сосудистая патология достаточно долго находится на первом месте среди неинфекционных причин смертности людей во всем мире. В 2019 году смерть от ишемической болезни сердца превысила отметку в 9 миллионов случаев (WHO Global Health Estimates), и с каждым годом это значение растет. Сердечно-сосудистой патологией в России страдает около 31 млн. человек, причем возраст пациентов с каждым годом неуклонно снижается. Кроме того, наблюдается увеличение доли пациентов с инфарктом в молодом возрасте (до 45 лет по классификации ВОЗ). При этом для таких пациентов характерна стёртая клиническая картина, что затрудняет постановку диагноза и дальнейшее прогнозирование течения заболевания с помощью классических методов диагностики. Поэтому поиск потенциальных молекулярно-генетических маркеров для ранней диагностики и лечения заболевания продолжает оставаться важной задачей исследований в профилактической кардиологии.

Целью данной работы стало выявление комплекса молекулярно-генетических маркеров, характерных для больных с ишемической болезнью сердца молодого (младше 50 лет), среднего (51-60 лет) и старшего (старше 61 года) возраста без предшествующего коронарного анамнеза.

В работе были использованы образцы цельной крови пациентов с острыми и хроническими патологиями различных групп возрастов. Анализ относительной длинны теломер был проведён методом ПЦР в режиме реального времени по протоколу, описанному M. Joglekar с соавт. (2020). Анализ экспрессии генов, ассоциированных с развитием кардиоваскулярных патологий, был проведён методом ПЦР в режиме реального времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR green.

Молекулярный анализ позволил выделить маркеры острых и хронических сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов различных возрастов. Было установлено существенное укорочение длин теломер в образцах цельной крови, полученных от пациентов молодого и среднего возраста с острыми кардиоваскулярными патологиями. Анализ экспрессии генов позволил выделить 6 генов, относительный уровень экспрессии которых имеет статистически значимые отличия в группах пациентов всех возрастов с сердечно-сосудистой патологией по сравнению с контролем. Гены IGF1R, ARRB2, GPD1L демонстрируют сниженную экспрессию во всех возрастных группах. Ген FPR2 имеет повышенную экспрессию в группах больных моложе 50 лет.

Уменьшение относительной экспрессии генов ABCB1, NOXA1 характерно для пациентов старшей возрастной группы. Выявление данных предикторов даёт возможность обнаружения лиц с высоким риском развития ишемической болезни сердца в молодом возрасте, которым требуется ранняя первичная профилактика.

*Работа выполнена при поддержке программы «Приоритет 2030» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, проекты Н462-99 и Н471-99).*

# КАРТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕСОРАСТИТЕЛЬНЫХ УСЛОВИЙ В ООПТ СРЕДНЕГО И НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

***А. А. Козлова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*akatoe-nn@yandex.ru*

Растительные сообщества представляют собой комплекс древообразующих пород различного видового, возрастного и бонитетного состава, приуроченный к определенным ландшафтным и почвенным условиям и являющийся средой обитания многочисленных видов животных. Отдельные таксономические группы обитателей фитоценозов, реагирующие на изменения лесорастительных условий, можно использовать в качестве биоиндикаторов.

В настоящем исследовании в роли биоиндикаторов выступают муравьи подрода *Formica* s.str. *(*Hymenoptera, Formicidae), населяющие южнотаежные, лиственные и лесостепные фитоценозы Поволжья. Особенности их расселения по лесным массивам оцениваются в контексте тяготения каждого вида к сообществам, образованным определенным типом древесных пород разного возраста, группы полноты и класса бонитета леса. Предполагается, что леса, образованные массивами спелого и приспевающего древостоя, способствуют образованию крупных комплексов муравейников.

Результатом оценки распределения популяций муравьев по исследуемым территориям явилась карта Среднего Поволжья со следующими слоями: линейный слой административных границ регионов и точечный слой с данными о комплексах муравейников *Formica* s. str. (каждая точка несет в себе информацию о конкретном муравейнике – название населенного пункта, тип фитоценоза, вид муравья, дата сбора данных).

При оценке плотности поселений *Formica s. str*. на цветовой карте показаны объекты 7-9 классов плотности на севере Нижегородской области, границе Нижегородской области и республики Чувашия, что соответствует крупным комплексам муравейников (>20 гнезд в одном комплексе). Объекты 4-6 классов плотности в Самарской области и республике Марий Эл соответствуют малым комплексам (<20 муравейников). Следует отметить, что районы с высокой плотностью поселений муравьев территориально приурочены к ООПТ регионального значения (Керженский государственный природный заповедник, Пустынский заказник, национальный парк Марий Чодра).

Карта «горячих точек» более детализирована относительно карты плотности поселений муравьев *Formica s. str*., что объясняется делением исследуемой территории на квадраты. Прототипом такого анализа стало картирование ареалов популяций муравьев еще в 1960е, также сопровождаемого геометрическим делением. В нынешней работе на квадраты делятся растительные сообщества не всего Поволжья в целом, а лишь тех территорий, где обнаружены комплексы муравейников. Обозначения «горячих точек» на цветовой карте соответствуют локализации крупных и обширных комплексов в ООПТ и лесных массивах Нижегородской и Самарской областей, республики Чувашия. Данные локалитеты соответствуют высокополнотным, среднебонитетным лесонасаждениям, преимущественно хвойным и хвойным с примесью мягколиственных пород.

# ЗООПЛАНКТОН ГОРЬКОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ НИЖЕГОРОДСКОЙ ГИДРОЭЛЕКТРОСТАНЦИИ

***А. А. Колесников*[1], *А. А. Мольков*[2], *Г. В. Шурганова*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kolesnikov897@gmail.com*

[2]Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Зоопланктон – важный компонент водных экосистем. Причины и механизмы, обуславливающие динамику количественных показателей развития зоопланктона, обычно связывают с рождаемостью и скоростью роста, не уделяя должного внимания его смертности. Но без измерения этого показателя невозможно достоверно оценить потоки энергии в водоеме. Знания о естественной смертности, не связанной с хищничеством, являются основным инструментом прогнозирования и управления состоянием водных экосистем.

Изучение смертности зоопланктона, не связанной с хищничеством, в гидробиоценозах вблизи ГЭС представляется актуальным. Цель данной работы состоит в анализе изменений численности и биомассы зоопланктона, определении доли мертвых особей рачкового зоопланктона в общей численности и биомассе выше и ниже Нижегородского гидроузла.

Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, отобранные в весенне-осенний период 2022 г. на станциях верхнего и нижнего бьефов Нижегородской ГЭС. В качестве показателя смертности использовали долю численности или биомассы мертвых особей низших раков (Cladocera, Copepoda) от общей численности или биомассы всего зоопланктона.

В целом, в составе зоопланктона акваторий бьефов обнаружено 35 видов: Rotifera – 19 (54%), Cladocera – 11 (32%), Copepoda – пять видов (14%). Большинство из них являлись космополитами, среди экологических групп чаще других встречались облигатно – планктонные виды.

Максимальные значения численности и биомассы зоопланктона были зарегистрированы в августе: 71,9±2,9 тыс. экз./м$^3$ (выше ГЭС), 5,6±1,1 г/м$^3$ (ниже гидроузла) соответственно. Минимальные значения численности (3,8±0,9 тыс. экз./м$^3$) были отмечены в мае, а биомассы зоопланктона (0,04±0,01 г/м$^3$) – в октябре.

Доля мертвых особей в общей численности зоопланктона была статистически значимо высока в августе 2022 г. ниже Нижегородского гидроузла. Во все периоды исследования доля мертвых особей статистически значимо больше на акватории водохранилища ниже, чем выше гидроузла. Максимальные значения доли некромассы в общей биомассе зоопланктона зафиксированы в мае и августе. Выше ГЭС она составила 16–65%, ниже гидроузла – 25–95%. Высокая смертность зоопланктона Горьковского водохранилища может быть связана с рядом факторов. В нижнем бьефе высокие значения гибели крупных лимнических фильтраторов и хищников обусловлены гидромеханическим воздействием. Кроме того, большое влияние могут оказывать сезонные условия, а также динамика развития фитопланктона.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в Горьковском водохранилище вблизи Нижегородской ГЭС происходит трансформация зоопланктона. Наблюдается обеднение планктонных сообществ в нижнем бьефе, обусловленное влиянием гидроузла электростанции, о чем свидетельствует увеличение доли мертвых особей рачкового зоопланктона здесь.

*Работа выполнена в рамках реализации Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» «Комфортная окружающая среда» ННГУ (№ темы Н-468-99_2021-2023).*

# ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ ТЕРПЕНОВ В ОТНОШЕНИИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

***А. И. Колесникова*[1], *Е. Ю. Тризна*[1], *И. Р. Гильфанов*[1], *Л. Е. Никитина*[2], *А. Р. Каюмов*[1]**

[1] Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *kolesnikova.ai337@gmail.com*

[2]Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

*Staphylococcus aureus* является причиной широкого спектра заболеваний, начиная от поверхностных инфекций кожи и заканчивая системными инфекциями. Он естественным образом чувствителен практически ко всем когда-либо разработанным антибиотикам, однако обладает высокой способностью приобретать резистентность к большинству антибиотиков, используемых в настоящее время.

В связи с высокой скоростью развития резистентности у патогенных микроорганизмов, которая ставит под угрозу терапию бактериальных инфекций и повышает уровень смертности, в различных областях наук поиск новых антимикробных соединений с низкой токсичностью и стоимостью становится все более актуальным. Сейчас большинство исследований направлены на поиск комбинированной терапии, направленной на усиление известных антимикробных препаратов природными соединениями, с помощью которых можно понизить их действующие концентрации. Терпены являются основными компонентами эфирных масел, представляющих собой класс липофильных углеводородных соединений. Сообщалось, что терпены проявляют противомикробную активность как в отношении чувствительных, так и устойчивых к антибиотикам бактерий, в основном за счет их способности приводить разрыву клеток и ингибированию синтеза белка и ДНК. Кроме того, было показано, что терпеноиды за счет мембранотропного действия приводят к увеличению проницаемости клеток для противомикробных препаратов и тем самым способствуют повышению эффективности последних в отношении патогенных микроорганизмов.

В работе была проведена оценка антибактериальной активности 53 терпенов в отношении клеток *Staphylococcus aureus*. Было показано, что 36 соединений обладали антимикробной активностью, при этом минимальная подавляющая концентрация (МПК) варьировала от 2048 мкг/мл до 8 мкг/мл. Чтобы оценить потенцирование антибиотиков, проводили оценку синергизма терпенов и амикацина, мирамистина, цефтриаксона и ципрофлоксацина с использованием метода шахматной доски. Было показано, что 11 соединений способны повышать эффективность антибиотика и действовать синергетически. Установлено, что индекс фракционной ингибирующей концентрации (иФИК) амикацина в присутствии этих веществ варьировал в диапазоне 0,094-0,375. Совместное использование 7 терпеноидов с цефтриаксоном также приводило к повышению эффективности последнего, хоть и эффект был менее выражен, при этом иФИК составил 0,251-0,502. Среди 53 терпеноидов 5 повышали эффективность ципрофлоксацина. При этом ни одно из соединений не проявляло синергизм с мирамистином.

Таким образом, совместное использование терпеноидов с различными противомикробными препаратами в отношении золотистого стафилококка способно повысить эффективность антибиотиков, что может служить основой для нового подхода в противомикробной терапии.

*Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.*

# ОПТИМИЗАЦИЯ СПОСОБОВ ЭЛИМИНАЦИИ БИОПЛЕНОК В БЫТОВЫХ УСЛОВИЯХ С САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ ПОВЕРХНОСТЕЙ

***С. В. Колышкина***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*milogreen1009@gmail.com*

Биопленки представляют собой микробные сообщества, заключенные в самопроизвольный матрикс внеклеточных полимерных веществ, которые обнаруживаются как на биотических, так и на абиотических поверхностях. В составе биопленок клетки трудно поддаются воздействию антибиотиков, дезинфицирующих средств и стрессовых условий окружающей среды, что делает борьбу с ними чрезвычайно сложной.

Биопленки обнаруживаются практически на всех видах поверхностей, таких как пластик, стекло, металл, дерево. Известно, что новые экологические тенденции и образ жизни потребителей способствуют образованию биопленки на бытовых поверхностях и технике, что повышает необходимость в оптимизации способов деструкции биопленок. При малоэффективном проведении процедуры гигиенизации дезинфицирующие средства не проникают через матрикс биопленки, избегая разрушения их живых клеток. Поэтому нарушение матрикса биопленки является одним из главных подходов к элиминации микробных биопленок. Целью работы было оценить эффективность удаления патогенов, присутствующих на санитарно-гигиенических поверхностях.

На первом этапе работы проводили оценку влияния антисептиков и универсального моющего средства на основе активного хлора (УМС) на подавление роста и образование биопленок условно-патогенными бактериями *Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Micrococcus luteus, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Для этого бактерии выращивали в 96–луночном планшете в течение 24 часов при 37°С в присутствии исследуемых веществ, после чего проводили оценку жизнеспособности бактерий по резазуриновому тесту. В отличии от антисептиков, УМС не приводило к подавлению роста ни одного штамма бактерий.

На следующем этапе проводили анализ деструкции микробных биопленок гидролитическими ферментами – нуклеаза и субтилизинподобная протеаза – и УМС. Для определения эффективности разрушения биопленок клетки условно-патогенных бактерий *S. aureus, S. epidermidis, M. luteus, K. pneumonia, E. coli* и *P. aeruginosa* выращивали двое суток в 96-луночных планшетах при 370С на среде ВМ для образования биопленки. Далее обрабатывали ферментами и УМС. Видимый эффект наблюдали у обоих исследованных ферментов в отношении штаммов *E. coli* и *M. luteus*. Нуклеаза 1 повышала эффективность удаления биопленок *P. aeruginosa* и *K. pneumonia*, а субтилизинподобная протеаза – *S. aureus*.

# ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ АМИСУЛЬПРИДА ПРИ ТАУПАТИИ, ВЫЗВАННОЙ СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ ТАУ-БЕЛКА С МУТАЦИЕЙ [R406W] У МЫШЕЙ

***А. А. Комарова***

Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*a.komarova2@g.nsu.ru*

Тау-белок участвует в стабилизации микротрубочек, влияет на аксональный транспорт и рост аксонов. В недавних исследованиях было продемонстрировано, что конститутивная активность серотонинового рецептора 5-$HT_7R$ индуцирует гиперфосфорилирование тау-белка и его последующую агрегацию посредством взаимодействия с тау-киназой CDK5. Амисульприд – препарат, оказывающий антидепрессантный и про-когнитивный эффект, который в том числе объясняется антагонистическим действием на 5-$HT_7R$.

Целью данной работы является изучение применения амисульприда при повышении экспрессии гена, несущего мутацию [R406W] тау-белка, в префронтальной коре на регуляцию когнитивных функций и на гиперфосфорилирование тау белка. Эксперименты проводили на 2-месячных самцах мышей линии C57BL/6J. Животные были разделены на две группы – «опытной» в префронтальную кору вводили вирусный конструкт AAV-Tau [R406W], меченый eGFP, «контрольной» группе вводили AAV-eGFP. Каждая группа была разделена на 3 подгруппы, которым в течение 5 недель внутрибрюшинно вводили препарат в дозах 3 и 10 мг/кг для первой и второй подгруппы соответственно. Животным третьей подгруппы вводили физиол. раствор.

При исследовании поведения животных в тесте «recency test» мы обнаружили, что мыши, которым вводили конструкт с eGFP и физиол. раствор, чаще подходили к менее новому объекту, чем мыши с Tau [R406W], которым вводили физиол. раствор ($p=0.061$), амисульприд с концентрацией 3 мг/кг ($p=0.041$) и 10 мг/кг ($p=0.012$).

Введение конструкта дит AVV-Tau[R406W] приводит к значительному повышению уровня мРНК генов Htr7 ($p=0.011$), Htr1a ($p=0.020$) и Cdk5 ($p=0.040$) во фронтальной коре по сравнению с контрольными животными (AVV-eGFP с физиол. раствором). В то же время применение амисульприда в дозе 10 мг/кг у животных с AVV-Tau[R406W] приводит к снижению уровня мРНК генов Htr7 ($p=0.006$), Htr1a ($p=0.0001$) по сравнению с животными, которым вводили физиол. раствор.

*Работа поддержана грантом РНФ №22-15-00011.*

# ВОЗМОЖНОСТИ FLIM-МИКРОСКОПИИ В ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИИ ГЛИОМ ОТ НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ МОЗГА – ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

***А. Д. Комарова*[1, 2], *К. С. Яшин*[1], *Е. Б. Киселева*[1], *А. М. Можеров*[1], *М. М. Лукина*[1], *В. И. Щеславский*[1], *М. В. Ширманова*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *komarova.anastasii@gmail.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Глиомы являются наиболее распространенными первичными опухолями головного и спинного мозга. Опухоли головного мозга характеризуются высокой заболеваемостью и смертностью вследствие своей локализации и инвазивного роста. Лечение глиом включает микрохирургическое удаление опухоли, при этом объем резекции опухоли достоверно коррелирует с продолжительностью жизни пациентов. Актуальной задачей в данной области является разработка новых высокочувствительных методов быстрой интраоперационной диагностики для определения края резекции. В качестве перспективной технологии рассматривается FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging) автофлуоресценции тканей. Целью работы являлось исследование автофлуоресценции образцов глиальных опухолей и нормальных тканей мозга пациентов *ex vivo* методом FLIM-микроскопии.

Образцы глиальных опухолей и нормальных тканей мозга пациентов исследовали с помощью FLIM-микроскопии. Было исследовано 12 образов глиом различной степени злокачественности: Grade II (n=5), Grade III (n=3) и Grade IV (n=4), а также образцы белого вещества, перитуморальной области, и коры головного мозга. Образцы транспортировали в 10% БСА (бычий сывороточный альбумин) на льду, в течение 30 мин после хирургического удаления опухоли. Анализ автофлуоресценции метаболического кофактора НАД(Ф)Н проводили методом FLIM на лазерном сканирующем микроскопе LSM 880, оснащенном FLIM модулем. Автофлуоресценцию возбуждали на длине волны 750 нм фемтосекундным лазером Mai Tai HP. Флуоресценцию детектировали в диапазоне 450-490 нм. Мощность лазерного возбуждения на образце составляла 6 мВт. Время сбора сигнала составляло 120 с. Параметры затухания флуоресценции оценивали в программе SPCImage.

Методом FLIM-микроскопии установлены статистически значимые отличия ($p<0,001$) между глиальными опухолями различной степени злокачественности. По среднему времени жизни флуоресценции НАД(Ф)Н: (Grade IV) = 1,02(0,88;1,14), (Grade II) = 1,05(0,93;1,14), (Grade III) = 1,04(0,95;1,11); по относительному вкладу короткой компоненты: (Grade IV) = 71,42(68,78;73,83), (Grade II) = 69,62(66,59;73,76), (Grade III) = 70,40(67,95;73,02). На основании полученных данных можно сделать предположения о сдвиге метаболического статуса глиобластом в сторону гликолиза, что ведет к повышению вклада свободного НАД(Ф)Н. Образцы белого вещества головного мозга и перитуморальные области характеризовались большим вкладом длинной компоненты: 69,08±3,72 % и 68,74±3,46 %, соответственно, по сравнению с образцами астроцитом и глиобластом.

Таким образом, метод FLIM позволяет различать между собой глиальные опухоли разной степени злокачественности и отличать опухолевую ткань от нормальной (белое вещество головного мозга) и от перитуморальных областей по параметрам затухания автофлуоресценции НАД(Ф)Н.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 22-25-01198.*

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ НА КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ КУЛЬТУРЫ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК HELA KYOTO В СОЧЕТАНИИ С ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

***У. А. Кононова*, *А. Б. Белотелов, Е. И. Черкасова, А. В. Масленникова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*usyakononova@gmail.com*

Изменение нормальных тканей в ходе проведения лучевой терапии является одной из актуальных проблем радиационной онкологии. В связи с этим активно разрабатываются методы защиты здоровых органов и тканей, подверженных действию ионизирующего излучения (ИИ). Одним из таких методов является фотобиомодуляция (ФБМ). В то же время воздействие таких защитных факторов, как ФБМ, не должно экранировать опухолевые клетки от воздействия ИИ в дозах, применяемых при лучевой терапии. С этой точки зрения необходима оценка возможного стимулирующего и адаптивного эффекта ФБМ в отношении опухолевых клеток.

Целью работы было изучение влияния ФБМ видимого красного диапазона в сочетании с ИИ на жизнеспособность и клеточный цикл постоянной линии Hela Kyoto. Эксперимент по изучению влияния ФБМ в сочетании с ИИ на клеточный цикл опухолевых клеток проводили в трех вариантах. В первом варианте на опухолевые клетки воздействовали ФБМ с флюенсами 0,3, 0,5, 1 и 2 Дж/см$^2$. Во втором варианте изучали адаптирующий эффект ФБМ – на клетки воздействовали ФБМ флюенсом 0,3 мДж/см$^2$, через час клетки облучали ИИ в дозах 2, 4 и 6 Гр. В третьем варианте, стимулирующий эффект ФБМ, порядок воздействия ФБМ и ИИ менялся местами. Первично на клетки воздействовали ИИ в дозах 2, 4 и 6 Гр, после чего через час на клетки воздействовали ФБМ с флюенсом 0,3 мДж/см$^2$.

Для всех трех вариантов эксперимента проводили оценку жизнеспособности клеток методом МТТ-теста спустя сутки после облучения, а также анализ клеточного цикла опухолевых клеток Hela при помощи набора для определения фаз клеточного цикла APC BrdU Flow Kit (Becton, Dickinson and Company, США).

Установлено, что жизнеспособность клеток при адаптивном эффекте ФБМ в комбинации с ИИ снизилась в среднем на 11%. Напротив, при стимулирующем эффекте ФБМ жизнеспособность клеток повысилась на 33%. Также показано, что независимое воздействие ФБМ на опухолевые клетки Hela Kyoto не оказывает статистически значимого изменения в соотношении фаз клеточного цикла, а также не влияет на их жизнеспособность.

При адаптивном эффекте ФБМ в сочетании с ИИ дозой 4 Гр наблюдалось наиболее выраженное накопление клеток в фазах G0-G1 (соотношение клеток в S и G0-G1 фазах увеличилось в 6 раз относительно контроля). В то же время при увеличении дозы облучения до 6 Гр при адаптивном эффекте статистически значимого эффекта не наблюдалось. При изучении стимулирующего эффекта ФБМ накопление клеток в фазах G0-G1 было одинаково выражено для ИИ в дозах 4 и 6 Гр и статистически значимо отличалось от контроля.

В результате исследования было выяснено, что ФБМ несет разнонаправленные эффекты в зависимости от дозы ИИ и последовательности воздействия на клетки. Однако биохимические механизмы воздействия ФБМ на клетку до сих пор подробно не исследованы.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант №20-02-00531).*

# МИКРОБНАЯ БИОМАССА ПОЧВОПОДОБНЫХ ТЕЛ ПЕЩЕР ВЬЕТНАМА

***Н. Р. Косенко*[1], *А. В. Князева*[2]**
[1]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1; *nrkosenko@gmail.com*
[2]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, 142290, Пущино Московской обл., просп. Науки, 5

Условия почвообразования на дневной поверхности значительно меняются в пещерах, чем обусловлено формирование почвоподобных тел (ППТ) с микробными сообществами, отличными от микробных сообществ поверхностных почв. Ввиду отсутствия исследовательских работ по данной теме она представляется весьма актуальной.

Целью работы было изучение запасов микробной биомассы ППТ пещер Вьетнама и их сравнение с запасами микробной биомассы близлежащих почв (горная красно-желтая гумусно-ферраллитная, бурая лесная на известняках) и опада.

В ходе работы изучены микробные сообщества ППТ, формирующиеся в пещерах особо охраняемых природных территорий (ООПТ) Вьетнама, проведено сравнение с сопряженными субстратами. Образцы отбирались летом 2022 года на территории Природного заповедника Батдайшон и Охраняемого леса Тэйзянг.

На основании исследований проведены расчеты запасов биомассы бактерий, актиномицетов и грибов, а также общей микробной биомассы и содержания прокариотной биомассы от общей биомассы и получены следующие результаты.

Наибольшие показатели общей микробной биомассы обнаружены в ППТ глинистой пещеры – 1,808 мг/г (Охраняемый лес Тэйзянг), когда в почвах зарегистрированы максимальные показатели в 0,524 мг/г (красно-желтая гумусно-ферралитная почва, Заповедник Батдайшон), а в опаде – 0,453 мг/г (Охраняемый лес Тэйзянг). Наименьшие значения общей микробной биомассы приурочены к опаду – 0,206 мг/г (Заповедник Батдайшон), а в почвах и ППТ составили 0,260 мг/г (бурая лесная, Заповедник Батдайшон) и 0,421 мг/г (известняковая пещера, Заповедник Батдайшон) соответственно.

Наибольшие показатели общей прокариотной биомассы представлены в ППТ песчаной пещере (Охраняемый лес Тэйзянг) – 0,529 мг/г, в почвах и опаде составили 0,310 мг/г (красно-желтая гумусно-ферралитная почва, Заповедник Батдайшон) и 0,223 мг/г (Охраняемый лес Тэйзянг) соответственно. Минимальные значения общей прокариотной биомассы выявлены в опаде – 0,044 мг/г (Заповедник Батдайшон), а в почвах и ППТ – 0,194 мг/г (бурая лесная, Заповедник Батдайшон) и 0,133 мг/г (известняковый грунт, Заповедник Батдайшон).

В процентном соотношении прокариотная биомасса от общей микробной биомассы минимально составляла 8,31% в глинистой пещере (Охраняемый лес Тэйзянг) вследствие низких показателей биомассы бактерий и актиномицетов, но большой грибной биомассы.

Таким образом, на основании полученных результатов, можно сделать вывод об отличии в содержании запасов микробной биомассы и соотношения прокариотной и эукариотной биомассы в сообществах ППТ, почв и опада. Как было показано в более ранних работах, значения микробной биомассы почв тропической зоны близки или несколько превышают данные показатели умеренной зоны.

# ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЛАНДШАФТА ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТРАЦИКЛИН-СОДЕРЖАЩИХ СХЕМ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

***Е. А. Кравцова*, К. А. Гаптулбарова, И. А. Цыденова, Д. С. Долгашева, Н. В. Литвяков, М. К. Ибрагимова**

НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, 634050, Томск, Набережная реки Ушайки, 10;
*zdereva.e@gmail.com*

На сегодняшний день одними из наиболее эффективных и часто используемых цитостатиков для лечения рака молочной железы (РМЖ) в неоадъювантном режиме (НХТ) являются антрациклин-содержащие препараты. Целью работы является изучение изменения CNA-генетического ландшафта опухоли молочной железы при применении антрациклин-сожержащих схем НХТ в зависимости от статуса гематогенного метастазирования. Материалы и методы. В исследование включено 35 больных люминальным В HER2- РМЖ IIA–IIIB стадий. Все пациентки получали 4-8 курсов НХТ по схемам FAC/AC, CAX. Для анализа CNA проводили микроматричный анализ (Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array). Результаты. Проведен анализ распределения частот CNA в группах пациенток до и после лечения в зависимости от наличия гематогенного метастазирования. В исследуемой группе у 13 пациенток (37,1%) зарегистрировано возникновение гематогенного метастазирования (среднее время 45,7±0,4 мес. (min-max: 4-130)).

В результате сравнения частот встречаемости CNA в группе пациенток до лечения показано, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в 18q11.2, 18q12.1 и 18q12.2 регионах, в частности у 23,0% пациенток с наличием гематогенного метастазирования идентифицирована амплификация данных регионов при полном отсутствии амплификаций в них в группе пациенток без гематогенного метастазирования (p=0,035).

В результате сравнения частот встречаемости CNA после лечения показано, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в 9p22.2 регионе (0% до лечения/38,5% после НХТ) (p=0,00229). Также установлено, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве делеций в 9p21.3 регионе (0% до лечения/23,1% после НХТ) (p=0,053). Потенциально данные локусы могут выступать в качестве прогностического маркера возникновения гематогенного метастазирования у больных люминальным В подтипом РМЖ при назначении антрациклин-содержащих схем НХТ.

Вывод. Выявлены потенциальные прогностические маркеры возникновения гематогенного метастазирования при РМЖ при применении антрациклин-содержащих схем в режиме НХТ.

*Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 22-25-00499).*

# ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ РИБОФЛАВИНА

***П. В. Крикунова*[1], *Э. Р. Толордава*[2], *Н. А. Архарован*[1], *Е. В. Хайдуков*[1], *Д. Н. Каримов*[1], *Т. Н. Паллаева*[1]**

[1]ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59, 119333, Москва, Ленинский просп., 59/1; *krikunova.pv@gmail.com*

[2]НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Применение рибофлавина или витамина B2 ограничено в связи с его низкой растворимостью в воде, и, как следствие, низкой биодоступностью. Одним из методов повышения растворимости и биодоступности веществ является получение метастабильных полиморфных модификаций, имеющих более высокую термодинамическую растворимость и сохраняющих молекулярную структуру исходного соединения.

В данной работе были синтезированы полиморфные модификации рибофлавина и исследованы их структура и свойства, а также антимикробная активность и возможность функциональной модификации полученных кристаллов. Идентификация полученных микрокристаллических структур проводилась по результатам комплексного исследования с использованием оптической микроскопии, конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ), сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), рентгенофазового анализа и динамического рассеяния света.

По данным рентгенофазового анализа (РФА), коммерчески доступный рибофлавин относится к А-типу, при перекристаллизации рибофлавина под действием кислот образуются кристаллогидраты типа В/С – короткие игольчатые кристаллы, собранные в пучки или шарики. В отличие от коммерческого рибофлавина и структур, полученных при добавлении кислот, полиморфная модификация рибофлавина, синтезированная добавлением раствора диметилсульфоксида (ДМСО), обладает высокой гидрофильностью, что значительно повышает ее биодоступность. Важно отметить, что перекристаллизация рибофлавина не приводит к изменению молекулярной структуры в полученных образцах, что подтверждается данными ЯМР-спектроскопии.

Для исследования возможности функционализации поверхности частиц рибофлавина, коммерческие кристаллы А-типа и полученные поликристаллические частицы В/С-типа были покрыты полимерной оболочкой состава хитозан (Chit)/ сульфат декстрана (DS) и ДЭАЭ-декстран/ сульфат декстрана (DS) методом послойной электростатической адсорбции полиэлектролитов, что было подтверждено изменением заряда поверхности частиц при нанесении полимеров.

Антибактериальная активность полученных микрокристаллических структур была продемонстрирована по отношению как к грамположительным, так и к грамотрицательным бактериям из образцов клинического материала из коллекции ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Фотоинактивация проводилась с использованием источника с длиной волны 365 нм. Проведенные исследования показали, что все исследуемые образцы обладают ярко выраженными антибактериальными свойствами, что проявляется значительным подавлением количества КОЕ исследуемых бактерий.

*Работа выполнена при частичной поддержке РНФ (№ 23-29-00952).*

# НОВЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ВАРИАНТ С НЕЯСНЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ЗНАЧЕНИЕМ В ГОМОЗИГОТНОМ СОСТОЯНИИ У ПАЦИЕНТКИ СО СПИНОЦЕРЕБЕЛЛЯРНОЙ АТАКСИЕЙ

***А. А. Криницына*[1], *В. С. Леонова*[1], *О. С. Грознова*[1–3], *М. С. Беленикин*[1], *Д. К. Черневский*[1], *А. Н. Антоненко*[1], *М. А. Ревкова*[1], *Д. А. Родионова*[1], *Н. Р. Соколова*[1], *П. В. Уланова*[1], *А. А. Золотопуп*[1], *Е. О. Бондарчук*[2, 3], *Н. А. Дорощук*[1]**

[1]ООО «Эвоген», 115162, Москва, ул. Лестева, 18; *rusinovavaleria@yandex.ru*

[2]НИКИ педиатрии и детской хирургии им. акад. Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 125412, Москва, ул. Талдомская, 2

[3]Некоммерческая организация БФ «Геном жизни»

Аутосомно-рецессивная спиноцеребеллярная атаксия представляет собой гетерогенную группу прогрессирующих наследственных заболеваний, характеризующихся задержкой психомоторного развития с манифестацией преимущественно в молодом возрасте. Мы представляем клинический случай пациентки 12 лет, рожденной в кровнородственном браке. С первого года жизни у пробанда наблюдается задержка речевого и двигательного развития, в настоящее время – атаксия и когнитивные нарушения. Среди фенотипических проявлений отмечаются макроцефалия, гипертелоризм, эпикантус, а также широкие концевые фаланги больших пальцев рук и ног. На МРТ выявлены дегенеративные изменения в полушариях и черве мозжечка. Осуществлен широкий спектр генетического тестирования, включая панели генов и секвенирование всей мтДНК. Каузативный вариант обнаружен не был, в результате чего пробанду и его родителям было проведено полногеномное секвенирование.

Полногеномное секвенирование трио было проведено с использованием высокопроизводительного секвенатора DNBSEQ-T7 (MGI, Китай) по протоколу PCR-free с ферментативной фрагментацией (MGI, Китай). Валидация полученных результатов осуществлялась методом прямого секвенирования по Сэнгеру. Капиллярный электрофорез выполнен на генетическом анализаторе ABI 3500 (Applied Biosystems, USA).

В результате анализа данных, полученных после проведения полногеномного секвенирования, в 5 интроне гена SNX14 обнаружен вариант нуклеотидной последовательности (chr6: 86275726 T>C (hg19/GRCh37)) в гомозиготном состоянии, вероятно приводящий к образованию нового донорного сайта сплайсинга (c.462-589A>G, NM_153816.6, SpliceAI Δ score 0.63). Данные о частоте в базах gnomAD отсутствуют, частота GMAF C=000004 (TopMed). Выявленная находка классифицируется как вариант с неясным клиническим значением (критерий ACMG-PM2). Родители пробанда являются гетерозиготными носителями chr6: 86275726 T>C. Согласно литературным источникам, патогенные варианты в гене SNX14 описаны при аутосомно-рецессивной спиноцеребеллярной атаксии, тип 20 (OMIM: 616354).

Принимая во внимание все полученные данные, мы полагаем, что обнаруженный вариант неясного клинического значения в гене SNX14 является причинным в исследуемом клиническом случае.

*Исследование поддержано некоммерческой организацией Благотворительный фонд медико-социальных генетических проектов помощи «Геном жизни» (Москва).*

# FLIM И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ В ОЦЕНКЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

***Д. П. Крылов*[1, 2], *Д. С. Козлов*[1, 2], *С. А. Родимова*[1, 2], *А. М. Можеров*[1], *М. М. Карабут*[1], *Д. С. Кузнецова*[1, 2]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *dmitr.krilow2013@yandex.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

В настоящее время идёт поиск новых методов экспресс-оценки структурно-функционального состояния печени, так как комплексная оценка необходима для планирования объема резекции с целью снижения риска развития синдрома недостаточного объема печени и послеоперационной летальности. Перспективным методом представляется мультифотонная микроскопия с возможностью регистрации времени жизни флуоресценции (FLIM) в сочетании с молекулярным анализом ранних маркеров индукции токсического повреждения. Цель работы - оценка структурно-функционального состояния печени при токсическом повреждении методом FLIM в сочетании с анализом изменения относительного уровня экспрессии генов, ассоциированных с развитием патологии печени, на модели *ex vivo*.

*Ex vivo* образцы печени мышей получали с помощью вибрационного микротома и помещали в стандартную культуральную среду. Для индукции токсического повреждения культуральную среду с образцами насыщали парами тетрахлорметана (CCl4). Инкубация с токсином проводилась в течение 3 часов. Для подтверждения токсического повреждения проводили стандартный гистологический анализ. Метаболический статус гепатоцитов анализировали методом FLIM на основе данных о временах жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАД(Ф)Н (t1 и t2 (пс), соответственно) и их вкладов (a1 и a2 (%), соответственно). Оценку уровня экспрессии генов, ассоциированных с развитием токсического повреждения, проводили методом ПЦР в режиме реального времени.

Анализ метаболического статуса гепатоцитов показал, что значения средневзвешенного времени жизни флуоресценции НАД(Ф)Н (tm, пс) через 24 и 48 ч инкубации с токсином статистически значимо снижались по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении общей метаболической активности гепатоцитов, поврежденных после воздействия CCl4. Кроме того, значения вклада времени жизни флуоресценции связанной формы НАД(Ф)Н (a2) в гепатоцитах после инкубации с CCl4 статистически значимо снижались на все временные точки мониторинга. С применением молекулярного анализа показана тенденция к изменению уровня экспрессии генов, ассоциированных с развитием патологии печени, что согласуется с данными время-разрешенного имиджинга FLIM.

Проведен анализ метаболического статуса гепатоцитов на *ex vivo* образцах печени после токсического повреждения. Проанализировано изменение уровня экспрессии генов, ассоциированных с токсическим повреждением. Показано, что метод FLIM в сочетании с молекулярным анализом позволяет обнаружить ранние патологические изменения печени при развитии токсического повреждения.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда №22-25-00098.*

# ОЦЕНКА КООРДИНАЦИИ У ДЕТЕЙ СТАРШЕГО ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА С ЗПР В ДОО НИЖНЕГО НОВГОРОДА

***А. А. Крылова*, *М. А. Яковлева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*annkrulova@yandex.ru*

Изучение координации – части физического развития детей с ЗПР является важной задачей, так как определяет эффективность выбранной стратегии коррекционной помощи в наиболее пластичном к воздействиям возрасте. Координация стремительно формируется именно в этом возрастном периоде (от 5 до 7 лет) и является, по нашему мнению, показательным критерием гармоничного физического развития. Сложность оценки координации обусловлена трудностью исследования данной группы детей.

Нами было проведено исследование крупной и мелкой моторики, координационных способностей у детей с ЗПР и нормотипии дошкольного возраста с целью выявления ключевых особенностей двигательной сферы у воспитанников МБДОУ Детские сады №391 и 199 г. Нижнего Новгорода, 38 детей с ЗПР и 57 детей нормотипии, на основании согласия родителей.

Оценочные тесты отбирались нами по принципам доступности и валидности в отношении двух исследуемых групп, тесты для анализа крупной моторики («Проба Ромберга» и «Бросок мяча над собой») и мелкой моторики («Падающая линейка», «Уложи монеты в коробку»). Диагностика проводились начиная с заданий на мелкую моторику, которые требуют задействования большего количества афферентных нейронов, затем тестировали крупную моторику ребенка.

Результаты позволяют сделать определенные выводы об особенностях координации у детей с ЗПР. Дети с ЗПР выполняли тесты на крупную моторику более уверенно и почти без ошибок в сравнении с выполнением тестов на мелкую моторику. Это может быть связано с недостаточностью регулирующих влияний со стороны лобных отделов коры на ретикулярные структуры различных подкорковых образований и замедленная передача информации, так как в процессе выполнения заданий на мелкую моторику задействовано больше афферентных нейронов в неокортексе.

Интерес вызвали результаты выполнения теста «Уложи монеты в коробку», так как они свидетельствуют о быстром формировании программы моторных действий у детей с нормотипичным развитием, в то время как действия детей с задержкой психического развития при укладывании монеток (пуговиц) в коробку носят хаотичный характер, что увеличивает время результата теста, также на время выполнения теста влияет нарушения мелкой моторики движений. В среднем, время пробы с монеткой у детей с ЗПР составило 28,1±1,57с правой рукой и 25,4±1,6 с левой рукой, в то время как у детей с нормотипией соответственно правой 24,9±1,9 с и левой рукой 25±1,55 с. Такие результаты могут свидетельствовать о нарушении латерализации отделов мозга.

# ИССЛЕДОВАНИЕ НАКОПЛЕНИЯ УГЛЕРОДА БИОМАССОЙ КАМПУСА УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО

***И. М. Кузнецова*[1], *В. Н. Якимов*[2], *Н. И. Зазнобина*[2], *Е. А. Тоневицкий*[3], *В. В. Онищенко*[4]**

[1]НИУ «Высшая школа экономики», 109028, Москва, Покровский бульвар, 11;
*itsypina@hse.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

[3]Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Миусская пл., 9

[4]Фонд «Центр стратегических разработок»

В последние годы ученые сосредоточились на разработке моделей для расчета экосистемных услуг, это стало актуально и для российских мегаполисов. Основная цель данного исследования — доказать, что кампусы в городах России формируют достаточное количество экосистемных услуг даже в промышленных районах.

По общему объему промышленного производства Советский район Нижнего Новгорода занимает 3-е место в регионе. Кампус Университета имени Н.И. Лобачевского был выбран в качестве полигона для исследования, чтобы доказать его ценность с точки зрения экосистемных услуг для всего района.

Инструмент i-Tree Eco (Service F., Nowak D.J. Understanding i-Tree: 2021 Summary of Programs and Methods. 2021.) использует входные данные о структуре деревьев, загрязнении воздуха, погоде и зданиях для оценки экосистемных услуг (i-Tree Manuals, Guides & Workbooks | i-Tree [Electronic resource]. URL: https://www.itreetools.org/support/resources-overview/i-tree-manuals-workbooks (accessed: 21.11.2022).).

В этой работе мы разработали уравнение, которые преобразуют оценки i-Tree Canopy и объединяется их с данными i-Tree Eco. Наша команда решила объединить данные полевых исследований с данными i-Tree Canopy, что и сформировало эмпирическую базу исследования.

Результат исследования запасов углерода показал, что садовые деревья и кустарники кампуса хранят 414,97 т углерода (C), что соответствует общей плотности запасов углерода в кампусе 31,97 т C га-1 и плотности углерода на полог 70,33 т C га-1. Наибольшее количество углерода содержится в биомассе березы, клена остролистного и липы. На эти три вида деревьев приходится 239,21 т C или 57,7%. Можно сделать вывод, что кампус Университета имени Н.И. Лобачевского формирует сопоставимые с мировым уровнем экосистемные услуги даже для промышленного района.

*Работа выполнена в рамках реализации Федеральной программы академического лидерства «Приоритеты 2030», проект Н-476-99_2021-2023.*

# ВЛИЯНИЕ АЗОТА, ФОСФОРА И КАЛИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У РАСТЕНИЙ *OXYCOCCUS MACROCARPUS*

***А. В. Кузьмина*, *Г. А. Волынец*, *Е. В. Березина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kuzmina.aleks4ndra@yandex.ru*

Несмотря на большие успехи в изучении минерального питания, достигнутые со времен Аристотеля и до наших дней, влияние минерального питания на метаболизм в целом и на синтез фенольных соединений – в частности – остается не до конца изученным. На сегодняшний день в свободном доступе немного экспериментальных статей по данной теме, и в них, как правило, исследуется влияние лишь одного из макроэлементов на накопление фенольных соединений и фотосинтетических пигментов.

Целью данного исследования является оценка влияния азота, фосфора и калия на накопление первичных (белки, углеводы, фотосинтетические пигменты) и вторичных метаболитов (фенольные соединения) у растений клюквы крупноплодной (*Oxycoccus macrocarpus*).

Объектом исследования являлись растения *O. macrocarpus* сорта Стивенс, которые предварительно размножали микрочеренкованием, культивировали в условиях *in vitro* в течение 2 мес., после чего их пересаживали в грунт (*ex vitro*). По окончании адаптации к грунту (2 мес.) все сосуды с растениями были поделены на 5 групп. В каждую из групп в течение следующих 2 мес. вносили либо не вносили макроэлементы путем полива растворами Кнопа: полным (NPK) и дефицитными по двум (N, P, K) и трем макроэлементам ($H_2O$). По окончании эксперимента оценивали морфометрические характеристики растений. В листьях определяли содержание растворимых фенольных соединений по М.Н. Запрометову, фотосинтетических пигментов по В.Ф. Гавриленко и Т.В. Жигаловой, углеводов по ГОСТ и G. Cocetta, белков по методу O.N. Lowry, а также осуществляли анализ почвы: определяли pH, содержание подвижного калия, подвижной фосфорной кислоты и нитратов.

Выявлено, что длина побегов во всех вариантах была примерно одинаковая, количество побегов в варианте NPK было на 30% больше, чем в вариантах N, P, K, $H_2O$; содержание растворимых фенольных соединений в вариантах N, P, K и $H_2O$ больше на 60%, чем в варианте NPK. Также было выявлено, что содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов a, b и каротиноидов) в вариантах N и NPK больше на 35%, чем в варианте P; содержание углеводов в варианте P больше на 30%, чем в вариантах N, K, NPK; содержание белков в варианте N больше на 25%, чем в вариантах K и $H_2O$.

Таким образом, дефицит двух (N, P, K) или трех ($H_2O$) макроэлементов приводит к увеличению содержания у растений клюквы крупноплодной вторичных метаболитов – фенольных соединений. Влияние дефицита этих макроэлементов на морфологические характеристики и на содержание первичных метаболитов не столь однозначно и требует дальнейшего выяснения.

# ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ОТРУБЕЙ ПШЕНИЦЫ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АНТОЦИАНОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

***Д. В. Кукуммань[1], Е. И. Гордеева[2], Е. К. Хлесткина[3], Д. А. Голубев[1], М. В. Шапошников[1], А. А. Москалев[1]***

[1]Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

[2]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10; *darya.kukuman@mail.ru*

[3]Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42–44

Антоцианы являются природными антиоксидантами и потенциальными геропротекторами. В последние годы большое внимание уделяется селекции пшеницы, накапливающей антоциановые соединения в зерне для улучшения здоровья человека и профилактики заболеваний. Мы изучили геропротекторные свойства экстрактов из отрубей пшеницы на модели *Drosophila melanogaster*.

В данной работе были получены солянокислые экстракты из двух линий пшеницы с неокрашенным (белые отруби) и окрашенным (фиолетовые отруби) перикарпом зерновки, различающихся небольшим участком хромосомы 2A, содержащим ген-регулятор биосинтеза антоцианов Pp3/TaMyc1. Для проведения исследований использовали особей *D. melanogaster* линии дикого типа Canton-S, которых содержали в климатических камерах Binder (25 °C и 12-часовом режиме освещения). Экстракты пшеницы добавляли на поверхность питательной среды в объеме 30 мкл. В качестве растворителя и контроля использовали 1% водный раствор HCl. Влияние экстрактов пшеницы на продолжительность жизни (ПЖ) *D. melanogaster* было изучено в пяти независимых биологических повторностях.

Экстракт фиолетовой пшеницы увеличил показатель медианной ПЖ на 2% ($p<0,001$), экстракт белой пшеницы увеличил показатели максимальной ПЖ самок на 4 % ($p<0,001$), соответственно. Однако по сравнению с экстрактом белой пшеницы экстракт фиолетовой пшеницы снижал показатели медианной ПЖ у самцов на 3% ($p<0,01$, точный критерий Фишера), а у самок на 4% ($p<0,001$).

Таким образом экстракты белой и фиолетовой пшеницы увеличивают ПЖ по сравнению с контролем. В тоже время экстракт фиолетовой пшеницы не оказывает положительного эффекта на ПЖ дрозофил по сравнению с неокрашенной пшеницей.

*Работа выполнена при поддержке Гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий № 2021-1930-FP5-9600-3182.*

# ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО ГЕМИНОМ ИЛИ FE(II) КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРЕПАРАТА НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ

***Ю. С. Кулакова, Е. Н. Горшкова, Е. А. Раззоренова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*jkulak0va@yandex.ru*

Нейтрофилы являются основными циркулирующими клетками врожденной иммунной системы и играют решающую роль в защите организма от вторгающихся патогенов, прежде всего бактериальной природы. Нейтрофилы экспрессируют различные рецепторы для иммуноглобулинов, которые облегчают поглощение опсонизированных микроорганизмов и вызывают активацию клеток. Ранее нами было показано, что под действием таких модифицирующих агентов как гемин и Fe (II) иммуноглобулины в составе комплексного иммуноглобулинового препарата (КИП) приобретают способность взаимодействовать с расширенной панелью антигенов. Поскольку до сих пор остается неизвестным может ли такая модификация повлиять на эффекторные функции КИП, целью работы являлось исследование влияния гемин- и железо-модифицированного КИП на фагоцитарную активность нейтрофилов и способность их продуцировать активные формы кислорода (АФК) при взаимодействии с бактериями.

В качестве источника иммуноглобулинов в работе был использован КИП (ИЦБТ, Россия), который представляет собой смесь иммуноглобулинов классов IgG, IgA, IgM, выделенных из плазмы здоровых доноров. К раствору КИП (10 мг/мл) добавляли гемин в концентрации 200 мкМ и 1 мМ (30 мин, 4°С), а также железо (II) в концентрации 2 мМ и 20 мМ и инкубировали (1 ч, 4 °С). Модифицированный КИП инкубировали с бактериями *Escherichia coli* BL21 ($2x10^9$ кл/мл) (30 мин, 37°С). Затем к опсонизированным КИП бактериям добавляли неактивированные и активированные ФНОα (25 нг/мл) или ЛПС (100 нг/мл) нейтрофилы ($2x10^6$ кл/мл). Фагоцитарную активность оценивали по интенсивности флуоресценции нейтрофилов после поглощения FITC-меченных бактерий *E. coli* BL21. Образование АФК нейтрофилами после их взаимодействия с КИП-опсонизированными бактериями определили по флуоресценции родамина 123. Измерение уровня флуоресценции проводили с помощью проточного цитофлуориметра CytoFLEX S (Beckman Coulter, США).

В ходе эксперимента было обнаружено снижение фагоцитарной активности нейтрофилами бактерий, опсонизированных гемин-модифицированным КИП (1 мМ) на 0 минуте и увеличение процента неактивированных нейтрофилов, вступающих в фагоцитоз на 10-40 минутах. Наблюдалось увеличение процента фагоцитирующих ФНОα-активированных нейтрофилов на 10 и 20 минутах. Было обнаружено увеличение доли ЛПС-активированных нейтрофилов, поглощающих FITC-меченные бактерии, опсонизированные гемин-модифицированным КИП (1 мМ) на 20 минуте наблюдения. Влияния железо-модифицированного КИП на процессы фагоцитоза и продукции АФК нейтрофилами выявлено не было.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (номер проекта 23-74-00004).*

# ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ МОНОНУКЛЕАРАХ ПРИ ПСОРИАЗЕ

***С. В. Куприянов***
Южно-Уральский государственный медицинский университет, 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64; *pfft@mail.ru*

Окислительный метаболизм напрямую связан с деятельностью иммунных клеток. Свободно-радикальные частицы, образующиеся в результате окислительных реакций, являются не только побочными продуктами метаболических путей или эффекторными молекулами для элиминации патогенов, но и необходимым компонентом для регуляции деятельности иммунных клеток, в частности внутриклеточных сигнальных систем, таких как NF-kβ. Однако нарушения баланса в окислительных процессах может приводить к неблагоприятным последствиям, таким как формирование окислительных продуктов, модифицированных белков, липидов или иных соединений, которые нарушают клеточную деятельность. Изменения окислительных процессов в иммунных клетках наблюдаются при многих патологических состояниях, например при аутоиммунных расстройствах. Одним из самых распространенных аутоиммунных заболеваний является псориаз. Псориаз характеризуется не только аутоиммунным кожным воспалением, но и рядом системных проявлений, таких как псориатическая артропатия. Многочисленные исследования подтверждают наличие изменений окислительного метаболизма как в плазме, так и в периферических мононуклеарных клетках крови (PBMC) при псориазе. В ряде работ показано, что нарушения окислительного метаболизма иммунных клеток имеет функциональные последствия при данной патологии, поэтому исследования нарушений окислительного метаболизма необходимы для понимания патогенеза псориаза. В настоящее время, разнообразие изменений окислительных маркеров, преобладающие продукты и источники остаются открытой областью изучения. В данной работе были исследованы маркеры перекисного окисления липидов и окислительных модификаций белков во фракции PBMC при псориазе, а также рассмотрены их взаимосвязи. Выявлены характерные для псориаза особенности окислительного метаболизма клеток PBMC, построены классификационные модели, на основании которых были выбраны наиболее значимые признаки, характеризующие окислительный метаболизм в клетках PBM при псориазе.

# ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ НА ФЕРМЕНТНЫЙ ПРОФИЛЬ ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ И НА ФОНЕ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

***А. К. Куприянова*, *С. В. Трофимова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*lilpanda38@mail.ru*

Алкоголь является одним из важнейших факторов риска для здоровья человека. Существует необходимость в поиске новых эффективных и неинвазивных методов детоксикации на фоне отравлений этанолом и его суррогатами. Последние 25 лет активно изучаются биологические эффекты газоразрядной плазмы. Известно, что газоразрядная плазма не вызывает повреждения тканей, стимулирует микроциркуляцию и антиоксидантные системы организма, обладает иммуномодулирующим эффектом. В связи с этим целью работы было исследование влияния излучения газоразрядной плазмы на ферментный профиль интактных животных и на фоне острой алкогольной интоксикации.

Эксперимент был проведен на 20 беспородных крысах, которые были разделены на 4 группы: 1 – контрольные крысы, 2 – контрольные крысы, обработанные излучением плазмы, 3 – крысы с острой алкогольной интоксикацией (ОАИ), 4 – крысы с ОАИ, обработанные излучением плазмы. ОАИ моделировали путем однократного внутрибрюшинного введения 33% раствора этанола в дозе 15 г/кг. Контрольным животным однократно внутрибрюшинно вводили физиологический раствор в дозе 15 г/кг. Воздействие излучением осуществляли на область брюшной стенки крысы в течение 10 минут. Излучение плазмы генерировали при формировании искрового разряда (100 мкс – длительность одного импульса, $5.9*10^{-2}$ Дж – энергия в одном импульсе, частота – 10 Гц). Через 24 часа у гепаринизированных животных для анализа забирали кровь и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 минут для получения плазмы. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли кинетическим методом по убыли НАДН. Активности аспартатаминотрасферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) определяли динитрофенилгидразиновым методом.

Было установлено, что воздействие излучением плазмы в течение 10 минут на брюшную стенку крыс не приводит к статистически значимым отклонениям активности ЛДГ, АСТ, АЛТ в плазме крови. При моделировании ОАИ у животных наблюдалось увеличение активности АЛТ, АСТ в 2 раза, ЛДГ в 1,5 раза в плазме крови, что свидетельствует о высвобождении тканевых ферментов печени и сердца. Воздействие излучением плазмы на животных с ОАИ приводило к нормализации ферментативного профиля через 24 часа после воздействия, что было установлено по снижению активности АСТ, АЛТ и ЛДГ до контрольных значений. Можно предположить, что излучение плазмы оказывает защитно-компенсаторное действие на организм на фоне ОАИ за счет активации антиоксидантных ферментов и, возможно, влияет на процесс биотрансформации этанола в печени.

# ПОЛИСПЕЦИФИЧНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРЕПАРАТА, ИНДУЦИРОВАННАЯ КИСЛОЙ СРЕДОЙ

***Д. А. Курасова*, Ю. С. Кулакова, Е. А. Раззоренова, Е. Н. Горшкова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*darya.kurasova@inbox.ru*

Иммуноглобулины играют важную роль в защите организма от патогенов, способствуя их распознаванию, связыванию и уничтожению. Препараты на основе иммуноглобулинов широко применяются для терапии различных заболеваний, в том числе для инфекционных. С целью повышения эффективности таких препаратов рассматривается возможность изменения спектра связываемых иммуноглобулинами антигенов под действием «мягкой» химической модификации. Целью нашей работы явилось исследование возможности приобретения полиреактивных свойств иммуноглобулинами классов G, A и M в составе комплексного иммуноглобулиновго препарата (КИП) под действием буферов с кислыми значениями pH.

В работе был использован комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИП) для энтерального применения (Микроген НПО ФГУП, Россия). В качестве антигенов использовали лизаты бактериальных штаммов *Escherichia coli* (штамм BL21) и *Staphylococcus aureus* (штамм 2879 M), а также рекомбинантный антиген VP1 норовируса (предоставлен НИИЭМ имени академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия).

Иммуноглобулины G, A и M в составе КИП модифицировали под действием кислых условий среды. Для этого использовали 0,25 M глицин-HCl буфер или глициновый буфер (0,25 M глицин) со значениями pH 2,6 и 4,0. Компоненты добавляли в соотношении 9:1 и инкубировали в течение 10 мин. Реактивность иммуноглобулинов против бактериальных антигенов оценивали с помощью Вестерн-блоттинга, а против вирусного антигена – с помощью иммуноферментного анализа.

В ходе работы было установлено, что воздействие на иммуноглобулины G, A и M буферами с кислым значением pH увеличивает эффективность связывания отдельных антигенов *E. coli* и *S. aureus* и способствует возникновению новых специфичностей, а воздействие на иммуноглобулины A и M буферами с кислым значением pH подавляет взаимодействие с некоторыми ранее связываемыми антигенами. Также было показано, что иммуноглобулины класса G и M увеличивают аффинность в отношении рекомбинантного антигена VP1 норовируса после обработки КИП буферами с кислыми значениями pH, в это же время иммуноглобулины класса A уменьшают аффинность в отношении рекомбинантного антигена VP1 норовируса после модификации КИП.

Таким образом, было установлено, что обработка комплексного иммуноглобулинового препарата буферами с pH 2,6 и 4,0 приводит к изменению антигенсвязывающих свойств иммуноглобулинов в составе КИП в отношении бактериальных и вирусных антигенов.

# ОПТИМИЗАЦИЯ ЭТАПОВ СБОРКИ ФАГОВЫХ ГЕНОМОВ МЕТОДОМ TAR-КЛОНИРОВАНИЯ НА ПРИМЕРЕ ЛИТИЧЕСКОГО БАКТЕРИОФАГА KP32_195 ПРОТИВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

***О. М. Курченко*, *Е. Е. Михайлова*, *И. К. Байков***

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8;

*o.kurchenko@g.nsu.ru*

Около ста лет назад была продемонстрирована способность бактериофагов уничтожать бактериальные патогены, однако идея использования фагов для лечения бактериальных инфекций активно развивается лишь в последнее десятилетие в связи с широким распространением антибиотикоустойчивых штаммов. Существуют данные о положительных результатах лечения фагами, и ряд препаратов уже применяется на практике. Однако основной проблемой фаготерапии остается узкий спектр хозяев большинства природных бактериофагов. В качестве решения предложено изменять специфичность фага, редактируя гены, кодирующие белки хвостовых шипов.

Редактирование геномов бактериофагов является нетривиальной задачей, поскольку классические подходы (гидролиз эндонуклеазами рестрикции и лигирование) неэффективны. А вот TAR-клонирование, основанное на способности дрожжей поглощать и объединять фрагменты ДНК за счет гомологичной рекомбинации, является эффективным методом. Этот подход был использован в данной работе для сборки протяженного генома из ПЦР-фрагментов.

Цель – оптимизировать этапы сборки фагового генома из перекрывающихся ДНК-фрагментов для получения инфекционных фаговых частиц на основе генома. В качестве объекта исследования был выбран литический бактериофаг KP32_195 с подовирусной морфологией, поражающий некоторые штаммы *Klebsiella pneumoniae*.

На первом этапе геном бактериофага KP32_195 был собран из ПЦР-фрагментов и встроен в центромерную дрожжевую плазмиду pRSII415 методом TAR-клонирования. Из дрожжей выделили плазмиду, несущую фаговый геном размером около 40 тыс. п.н.

Далее на основе собранного генома был получен инфекционный бактериофаг KP32_195. Поскольку клетки клебсиелл обладают толстой полисахаридной капсулой, препятствующей эффективной электротрансформации, «перезапуск» фагового генома осуществляли в промежуточном хозяине *Escherichia coli*. Для этого клетки *E. coli* трансформировали дрожжевой плазмидой, несущей фаговый геном, а после наработки фагового потомства бактерии разрушали хлороформом и отделяли водную фазу с бактериофагами. Полученный образец использовали для заражения клеток *K. pneumoniae* (штамм 2337 Коллекции экстремофилов и типовых культур ИХБФМ СО РАН), в результате чего регистрировали формирование фаговых бляшек на «газоне» клебсиелл.

Таким образом, геном бактериофага KP32_195 был собран из перекрывающихся фрагментов с помощью TAR-клонирования и «перезапущен» в *E. coli* с образованием инфекционных бактериофагов. В дальнейшем этот подход совместно с методами сайт-направленного мутагенеза будет использован для объединения различных элементов фаговых геномов, что позволит конструировать бактериофаги с заданными свойствами, а также детально изучать функции различных фаговых генов.

# ВИЗУАЛИЗАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ ЛАЗЕРНОЙ И СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИЕЙ ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

***А. А. Кустова*[1], *А. В. Дерюгина*[1], *М. Н. Иващенко*[2], *М. Н. Таламанова*[1]**

[1]Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, просп. Гагарина, 23;
*kustova.sasha.ru@mail.ru*

[2]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Достижения в области микроскопии продолжают стимулировать исследования в сфере клеточной визуализации. Распознавание происходящих изменений в ответ на действие стрессоров представляет собой сложную патофизиологическую и биофизическую задачу поскольку не всегда стресс-реакция своевременно идентифицируется стандартными клинико-лабораторными методами исследования. Цель работы – показать с помощью методов визуализации новые методические подходы к анализу состояния нейтрофилов в норме и при стрессовом воздействии.

В соответствии с целью исследования был проведен анализ действия технологического стресса, в качестве объекта были изучены 30 клинически здоровых высокопродуктивных коров чёрно-пёстрой породы. Технологическим стрессом для животных являлось совокупность факторов: перегруппировка, смена обслуживающего персонала, проведение ветеринарно-санитарных манипуляций.

Прижизненную оценку морфофункционального состояния клеток проводили на сканирующем электронном микроскопе Hitachi SU8220 (Япония). Разрешение 0,8 нм при 15 кВ, WD 4 мм 1,1 нм при 1 кВ в режиме торможения электронов. В методе компьютерной фазовой морфометрии на базе отечественного компьютерного лазерного фазово-интерференционного микроскопа МИМ-340 (Россия, Екатеринбург) использовали лазер с длиной волны 650 нм и объектив с увеличением 30×. Дополнительно проводили подсчет общего количества лейкоцитов методом прямой микроскопии на световом микроскопе Микромед С-11 (Россия) с программой МЕКОС-Ц и анализ лейкограммы в мазках, окрашенных по Романовскому – Гимза.

Методом интерференционной микроскопии установлено, что в пуле циркулирующих нейтрофилов количество неактивных клеток значительно снижалось при технологическом стрессе. Проведение электронной сканирующей микроскопии позволило выявить появление после технологического стресса НЕТозов и нейтрофилов с опустошенными гранулами и вакуолизацией цитоплазмы.

Следует отметить, что при анализе количества лейкоцитов и нейтрофилов стандартными методами по лейкоцитарной формуле и световой микроскопией, хотя и отмечалось значимое увеличение данных показателей относительно их уровня до стресса, но при сравнении числа лейкоцитов крови коров после технологического стресса с нормативными величинами, их значения находились в пределах границы видовой нормы.

Полученные результаты позволяют заключить, что методы лазерной интерференционной и электронной сканирующей микроскопий наглядно показывают изменение морфологической структуры и функциональной активности нейтрофилов, дают возможность значительно расширить информацию о состоянии и морфологии клеток, которую нельзя получить с использованием стандартных методов световой микроскопии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-26-00311.*

# АНАЛИЗ РОЛИ ИНДУЦИРОВАННОГО ЛОКАЛЬНЫМ РАЗДРАЖЕНИЕМ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В СИСТЕМНОМ ИЗМЕНЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ЖАСМОНАТОВ

***М. М. Ладейнова*, Д. В. Кузнецова, Е. В. Березина, А. А. Печёрина, В. А. Воденеев**
Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, просп. Гагарина, 23;
*ladeynova.m@yandex.ru*

Растения постоянно подвергаются различным воздействиям, в том числе локальным, которые вызывают раздражение отдельных частей растительного организма, в то время как остальная незатронутая действием стимула часть растения получает сигнал о данном воздействии. Дистанционным сигналом может выступать вариабельный потенциал (ВП). В дистальных частях растения ВП вызывает изменение активности различных физиологических процессов. Предполагается, что ВП может влиять на продукцию стрессовых фитогормонов, в том числе жасмонатов, важнейших посредников стресс-индуцированного функционального ответа. Таким образом, цель данной работы – исследовать изменения содержания жасмонатов при распространении ВП, индуцированного локальным раздражением, и изучить возможные ВП-опосредованные механизмы регуляции продукции жасмонатов.

Объектом исследования служили растения пшеницы мягкой. Генерацию ВП индуцировали локальным нагревом кончика листа. Регистрацию ВП проводили с использованием макроэлектродной установки. Исследование динамики концентраций $Ca^{2+}$, $H^+$ и $H_2O_2$ было выполнено с помощью флуоресцентных зондов. Содержание жасмонатов определяли на расстоянии от зоны локального нагрева. Пробоподготовка включала фиксацию фрагмента листа жидким азотом, гомогенизацию в экстрагирующем растворе, два этапа экстракции, центрифугирование и концентрирование. Количественный анализ жасмонатов выполняли методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Для изучения механизмов регуляции продукции жасмонатов использовали метод ингибиторного анализа: растения подвергали вакуумной инфильтрации раствором блокатора $Ca^{2+}$-каналов или ингибитора $H^+$-АТФазы. Контрольную группу инфильтрировали стандартным раствором без ингибиторов.

Генерация ВП в ответ на локальный нагрев сопровождается временным внутриклеточным снижением pH и увеличением концентраций $Ca^{2+}$ и $H_2O_2$. Локальный нагрев также вызывает увеличение содержания жасмонатов, которое начинает развиваться через 5 мин после действия стимула и достигает максимума через 10 – 20 мин. Роль ВП в качестве индуктора изменения концентрации жасмонатов при действии локального стимула подтверждают результаты ингибиторного анализа. Показано, что при ингибировании $H^+$-АТФазы значительно увеличивается содержание жасмонатов как в покое, так и при раздражении, а при действии блокатора $Ca^{2+}$-каналов снижается амплитуда стимул-индуцированного увеличения концентрации жасмонатов. Анализ динамики содержания жасмонатов при искусственной индукции экзогенным $H_2O_2$ показал её сходство с динамикой при действии локального стимула: максимума концентрация жасмонатов достигает через 15 мин. Влияние изменения концентраций $Ca^{2+}$, $H^+$ и $H_2O_2$ при ВП на быстрый синтез жасмонатов может происходить через изменение активности ферментов биосинтетического пути и регуляцию доступности субстрата.

*Исследование выполнено за счет гранта РНФ (проект № 22-14-00388).*

# ПОДБОР ПАРАМЕТРОВ СЕНСОРНОГО ЭЛЕМЕНТА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НАНОДВИЖЕНИЙ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

***Е. В. Лазаренко*[1], *С. Н. Плескова*[1, 2]**

[1]Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, 603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24; *rinlx@mail.ru*

[2]Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, просп. Гагарина, 23

Одной из проблем современного мира является нерациональное использование антибиотических препаратов среди населения, что приводит к увеличению числа микроорганизмов, обладающих устойчивостью к этим препаратам, а впоследствии к развитию хронических форм инфекционных заболеваний. Поскольку используемые в клинической практике методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам имеют ряд принципиальных недостатков, существует необходимость в разработке новых технологичных методов экспресс-тестирования антибиотикорезистентности, которые обеспечат клиницистов информацией, необходимой для своевременного назначения эффективной терапии. Одна из таких методик основывается на определении характеристики метаболизма бактерий путем детекции атомно-силовым микроскопом нанодвижений, вызванных метаболической активностью клеток, в связи с чем необходимо корректно подобрать сенсорный элемент, позволяющий регистрировать эти колебания с наибольшей чувствительностью.

Для отработки методики использовались нитрид-кремниевые кантилеверы A-MLCT (f 22кГц, k 0,07Н/м) (BRUKER, США) и кремниевые кантилеверы CSG10 (f 8-39 кГц, k 0,01-0,5 Н/м) и NSG10 (f 140-390 кГц, k 3,1-37,6 Н/м) (NT-MDT, Россия). Суспензия бактерий *Staphylococcus aureus* 2879М готовилась из суточной культуры, выращенной в LB-бульоне, путем 3-х кратной отмывки центрифугированием (450g, 5 мин) стерильным LB, после чего стандартизировалась на спектрофотометре (СПЕКС ССП 705, Россия) до 10^9 кл/мл. Для функционализации кантилевера на его поверхность наносили 0,01% поли-L-лизин (24°C, 10 мин), а затем 20 мкл рабочей бактериальной суспензии и инкубировали в термостате (37°C, 30 мин). Для получения контрольного сигнала используется кантилевер, обработанный только фиксирующим агентом (поли-L-лизином), для получения опытного сигнала используется кантилевер, на поверхности которого адгезированы бактерии. Зонд устанавливался в холдер атомно-силового микроскопа и погружался в аналитическую камеру, содержащую 5 мл стерильного LB-бульона. За счет регулирования взаиморасположения лазера, зеркала и фотодиода проводится центровка лазера на фотодиоде. В течение 15 минут проводится снятие аналитического сигнала DFL, пропорционального изгибу кантилевера в направлении нормали.

По результатам проведенных исследований использование кантилеверов A-MLCT (f 22кГц, k 0,07Н/м) дает наилучшие результаты, поскольку различия между аналитическим сигналом, выраженным в различии варианс амплитуд колебаний между контрольным и опытным образцом, было максимальным. В тоже время характеристики кантилевера NSG10 (f 140-390 кГц, k 3,1-37,6 Н/м) абсолютно не подходят для исследования нанодвижений, вызванных метаболической активностью бактерий.

*Работа выполнена при поддержке РНФ (номер проекта 22-14-20001).*

# АНАЛИЗ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ХИМЕРНОГО БЕЛКА, ПОСТРОЕННОГО ИЗ S ДОМЕНА VP1 НОРОВИРУСА И RBD S БЕЛКА SARS-COV-2

***В. А. Лапин*[1], *Е. В. Мохонова*[1], *Д. А. Мелентьев*[1], *М. И. Цыганова*[1], *Д. Е. Зайцев*[1], *Н. В. Неумоина*[1], *К. М. Перфилова*[1], *Э. А. Манакова*[2]**

[1]Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71; *fridens.95@yandex.ru*

[2]ООО «Централизованная лаборатория «АВК-Мед», 603028, Нижний Новгород, Спортсменский пер., 12

Одной из важных задач биомедицины является разработка способов защиты от вирусных инфекций, способных вызывать тяжелые формы заболеваний. Перспективным направлением на данный момент является использование вирусоподобных частиц, повторяющих особенности строения вируса и генерирующих иммунный ответ организма, сходный с реакцией иммунной системы на сам вирус. Для конструирования вирусоподобных частиц может быть использован поверхностный белок VP1 норовируса. Ранее нами был получен рекомбинантный белок VP1 норовируса, экспрессированный в *E. coli* штамма Rosetta2 (DE3) и химерный белок, состоящий из S домена VP1 и RBD S белка SARS-CoV-2 (VP1-RBD).

Целью работы стала характеристика антигенных свойств полученных рекомбинантных белков. Для этого были использованы образцы сыворотки крови здоровых лиц и лиц, имеющих в анамнезе заболевания желудочно-кишечного тракта, в частности хронический гастрит. Для характеристики химерного белка VP1-RBD были использованы также образцы сыворотки крови, протестированные с помощью коммерческих тест систем и положительные по антителам к RBD SARS-CoV-2.

Было обнаружено, что антитела класса IgG к рекомбинантному белку VP1 норовируса детектируются в 10–18% образцов сыворотки крови в разных возрастных группах от 0 до 61 года. Антитела класса IgM детектировались в 5-9% исследуемых образцов. У лиц с хроническим гастритом антитела класса IgG выявлены в 23% случаев, а антитела класса IgM в 4,3%. Сходная частота встречаемости антител против VP1 норовируса обнаруживалась при использовании химерного белка VP1-RBD. Кроме того, в 87% случаев химерный белок взаимодействовал с образцами сыворотки крови лиц, положительных на антитела к RBD SARS-CoV-2.

Таким образом, можно сделать вывод, что химерный рекомбинантный белок VP1-RBD содержит в своем составе эпитопы VP1 норовируса и RBD домена S белка SARS-CoV-2 и может быть применён в качестве основного антигена в составе прототипа комбинированной вакцины для профилактики COVID-19 и норовирусной инфекции.

# ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СУСПЕНЗИОННЫМИ КЛЕТКАМИ ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ

***М. В. Ларина*, *Е. В. Березина***
Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, просп. Гагарина, 23;
*mari_larina99@mail.ru*

Голубика щитковая (*Vaccinium corymbosum*) характеризуется значительным содержанием фенольных соединений, синтез которых, однако, ограничен сезонностью развития растений. Поэтому для круглогодичного получения фенольных соединений можно использовать суспензионные культуры. Целью работы являлось получение суспензионной культуры клеток голубики щитковой и оценка ее способности к синтезу фенольных соединений в зависимости от углеводного состава питательной среды.

Суспензионную культуру клеток голубики инициировали из каллусов и культивировали в жидкой питательной среде WPM с 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л БАП (стандартная среда) на орбитальных шейкерах. Для характеристики кривой роста культуры каждые два дня определяли количество клеток, объем клеточной культуры и ее массу, а также pH, электропроводность, содержание нитратов в питательной среде. Для выявления влияния углеводов на накопление фенольных соединений суспензионные клетки пересаживали на питательные среды с сахарозой, глюкозой или фруктозой в концентрации 30 г/л, 50 г/л или 70 г/л. Контролем была стандартная среда WPM. По окончании пассажа в клетках определяли содержание растворимых фенольных соединений (РФС), флавоноидов, катехинов, проантоцианидинов.

В ходе пассажа показатели pH и кондуктивности стандартной питательной среды оставались на одном уровне (соответственно, 3,2–4,45 pH, 1700–2600 мкСм/см). Кривые роста, построенные по количеству клеток, их объему и массе, показали первый максимум на 12–14 день пассажа и дальнейшую стабилизацию вплоть до 18 дня, после чего – второй максимум. При этом содержание фенольных соединений в клетках на 16 и 20 день не менялось. Основываясь на полученных данных, клетки пересаживали на свежую среду каждые 16 дней. При варьировании углеводным составом среды было выявлено, что самым высоким содержанием РФС (17–20 мг/г сырой массы) характеризуются клетки на средах с 50 г/л фруктозы и с 70 г/л сахарозы. Самое высокое содержание флавоноидов, в т.ч. катехинов, было характерно для клеток на среде с 50 г/л фруктозы. Наибольшее содержание проантоцианидинов (24 мг/г сырой массы) обнаружено в клетках на среде с 70 г/л сахарозы. При этом содержание указанных групп фенольных соединений в клетках на стандартной среде, было в 2–4 раза меньше. Таким образом, оптимальная продолжительность пассажа для суспензионных клеток голубики щитковой составляет 16 дней. Использование питательной среды с 50 г/л фруктозы или 70 г/л сахарозы повышает уровень фенольных соединений в суспензионных клетках.

# ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА LT19 – КОМПОНЕНТА НОВОГО CD19-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ХИМЕРНОГО АНТИГЕННОГО РЕЦЕПТОРА

***К. В. Латарцев*[1], *А. Н. Чикаев*[2]**

[1]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*k.latartsev@g.nsu.ru*

[2]Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2

В-клеточные лимфомы и лейкозы относятся к онкозаболеваниям, характеризующимся тяжелым течением и неблагоприятным долгосрочным прогнозом, в особенности у возрастных пациентов. Значительного прогресса в лечении В-клеточных неоплазий удалось достичь с использованием технологии адоптивного переноса перепрограммированных Т-клеток, экспрессирующих химерные антигенные рецепторы (CAR). CAR – это рекомбинантная молекула, узнающая специфический антиген и обеспечивающая MHC-независимую активацию Т-клеток. Наилучшие результаты были достигнуты при использовании CAR-T, специфичных к пан-В-клеточному маркеру CD19. На данный момент FDA одобрено четыре CD19-CAR-T препарата, применяющихся в зарубежных клиниках. В то же время в России не зарегистрировано ни одной подобной платформы.

В лаборатории иммуногенетики ИМКБ СО РАН была создана оригинальная CAR конструкция против CD19. В отличие от большинства зарубежных аналогов, основанных на фрагменте моноклонального антитела (МКА) FMC63, в данном варианте CAR используется МКА LT19. Ранее оно не использовалось в качестве компонента CAR, кроме того, не был локализован узнаваемый им эпитоп. В рамках работ по характеризации LT19-CAR и понимания его терапевтических возможностей было решено провести картирование эпитопа, узнаваемого LT19.

Для этого использовались клетки с поверхностной экспрессией гибридных вариантов человеческого CD19, содержащих фрагменты CD19 макаки резуса. Рецепторы CD19 человека и макаки имеют высокую степень гомологии, отличаясь набором нескольких а.о., локализованных в разных участках белка, при этом LT19 не распознает CD19 резуса. Таким образом, при замене фрагментов CD19 человека на аналогичные последовательности CD19 макаки и последующем анализе гибридных CD19 на способность связываться с LT19 можно определить ключевые позиции а.о., формирующих узнаваемый им эпитоп.

Для выполнения работы были получены лентивирусные конструкции, кодирующие экстраклеточную часть CD19 с замененными фрагментами гена на аналогичные из генома макаки. Эти плазмиды использовали для получения псевдовирусов, которыми были трансдуцированы клетки линии K562. Полученные клетки, несущие на поверхности гибридные CD19, анализировали на проточном цитометре с использованием флуорохром-меченых МКА LT19. Было показано, что ключевыми остатками, формирующими эпитоп LT19, являются W140 и S205, т.е. он является конформационным, локализован в участке, соответствующим экзонам 3 и 4 гена CD19 и частично перекрывается с эпитопом FMC63. Таким образом, LT19-CAR может рассматриваться как альтернатива хорошо зарекомендовавшим себя химерным рецепторам на основе FMC63.

# МИКРОБИОТА БЕРЕЗОВОГО СОКА И ЕЕ ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

***И. А. Латипова, Т. В. Григорьева, Д. Р. Яруллина***
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
*ilida24@mail.ru*

Березовый сок издавна применяется в народной медицине, так как обладает мочегонным, противовоспалительным, антиоксидантным и иммуностимулирующим действием. Он служит источником витаминов, микро- и макроэлементов. Березовый сок является очень хорошей средой для заселения микроорганизмами ввиду своего питательного состава. При брожении в нем повышается содержание микроорганизмов, многие из которых обладают пробиотическими свойствами.

Целью данной работы является определение состава микробного сообщества сока Березы повислой (Betula *pendula*) и пробиотического потенциала его отдельных молочнокислых представителей.

Состав микробного сообщества березового сока, собранного в апреле 2021 г. на территории Марий Эл, определили с помощью секвенирования генов 16S рРНК на секвенаторе MiSeq (Illumina). В березовом соке преобладали представители фил Firmicutes (55%) и Proteobacteria (43%), также присутствовали Bacteroidetes (1,9%). Микробное сообщество в основном состояло из родов *Leuconostoc* (37%) и *Clostridium* (17%), а также представителей семейства *Enterobacteriaceae* (42,5%). Восемь выделенных нами из березового сока штаммов микроорганизмов были отнесены к молочнокислым бактериям, согласно ГОСТ 10444.11-2013. Используя метод агаровых блоков, у исследуемых бактерий обнаружили слабую антагонистическую активность в отношении условно-патогенных бактерий, при этом изоляты BS 5 и BS 6 более эффективно подавляли рост *Enterococcus faecalis*, чем референсный пробиотический штамм *Lactiplantibacillus plantarum* 8РА3, выделенный из пробиотического препарата «Лактобактерин сухой» (ФГУП НПО «Биомед»). У всех изолятов, кроме BS 2, потенциальная адгезивность клеточной поверхности была выше, чем у референсного штамма *L. plantarum* 8РА3. Все изоляты были устойчивы к 2% желчи, но теряли жизнеспособность при действии соляной кислоты (pH 2,0).

Данные результаты важны при определении истинной полезности березового сока и выявлении потенциала молочнокислых бактерий березового сока для дальнейшего использования.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-16-00040).*

# КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ И УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ У САМОК КРЫС С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА

***А. Н. Лебедева, Р. Г. Каримова***
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
*1317kraski@gmail.com*

Гипергомоцистеинемия – это заболевание, характеризующееся высоким уровнем гомоцистеина в крови, обычно превышающим 15 мкмоль/л. Гомоцистеин обладает выраженным токсическим действием на клетку. В случае появления избытка гомоцистеина в организме он накапливается в крови, и основным местом повреждающего действия этого вещества становится внутренняя поверхность сосудов.

Известно, что у взрослых крыс повышенное содержание гомоцистеина является важным фактором развития когнитивных нарушений и нарушений краткосрочной и долговременной памяти. Исходя из этого, изучение данной темы является актуальной задачей.

Перед нами стояла цель – изучение когнитивных функций и уровня тревожности крыс с гипергомоцистеинемией в зависимости от стадии эстрального цикла.

Эксперименты проведены на белых крысах линии Wistar. Во время эксперимента крысы содержались в стандартных условиях вивария университета в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) при температуре окружающего воздуха (22 ± 2) °C, 12-часовом синхронизированном световом режиме, с комбинированным кормом и водой в свободном доступе. Гипергомоцистеинемию моделировали путем введения L-метионина (2 г/кг) внутрижелудочно ежедневно, в течение трех недель. Исследование когнитивных функций и уровня тревожности проводили с помощью поведенческих тестов: «условный рефлекс пассивного избегания», «распознавание нового объекта», «темно-светлая камера» и «открытое поле». Стадию эстрального цикла определяли методом микроскопии влагалищных мазков.

Статистический анализ проводили методами непараметрического и параметрического анализа с использованием программного обеспечения OriginPro (OriginLab, США). Использовали парный t-критерий Стьюдента или тест ANOVA для множественных сравнений, чтобы определить статистические различия для независимых выборок.

Установили, что уровень тревожности крыс зависит от стадии эстрального цикла и повышается в лютеиновую фазу относительно фолликулярной, причем отмеченные изменения более выражены у крыс с гипергомоцистениемией (время нахождения в светлой камере - 74,47±9,54 с и 81,19±9,01 соответственно, $P<0,05$). Ориентировочно-исследовательская и двигательная активность крыс при гипергомоцистеинемии снижается. При гипергомоцистеинемии установлена более высокая исследовательская активность периферической зоны «открытого поля» в стадию метаэструса. Когнитивные функции крыс в тестах «Распознавание нового объекта» и «Условной реакции пассивного избегания» не зависят от стадии цикла у контрольных и гипергомоцистеиновых крыс.

Гипергомоцистеинемия сопровождается снижением исследовательской активности в лютеиновую фазу цикла.

# МОДЕЛИРОВАНИЕ ТОЧЕК ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ АКТИВИРОВАННОЙ КУМАРИНАМИ С-334 И С-525 ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ.

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

[1]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1; *irnlevchenko@yandex.ru*

[2]Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1/7

[3]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

Кумарины С-334 и С-525 перехватывают возбуждение у триплетно-возбужденных кетонов, образующихся при рекомбинации перекисных радикалов по механизму Рассела и, при нахождении величины и количества точек ферментативной активности интенсивность ХЛ на 3–4 порядка выше, чем сами возбужденные кетоны. ХЛ - активированная кумаринами С-334 или С-525 имеет интенсивность в ~1600 или ~2000 раз выше, чем спонтанная ХЛ липидов, но при этом не отличается от нее по параметрам кинетических кривых и может быть использована для решения поставленной задачи. Точность определялась присутствием кардиолипина для стабилизации pH, гашением $Fe_2$+ и наличием кумаринов С-334 или С-525. Факторы, которые могут искажать значение точек ферментативной активности, можно выделить не достаточное добавление пероксида водорода, избыточное количество азота (II), метанола, денатурацию белка, изменение комформации CytC в комплексе CytC-CL.

На основании анализа параметров комплекса CytC-CL, кумарина С-334, кумарина С-525, пероксидазы хрена и люминола, проведены исследования сравнения сенсибилизирующей способности кумарина С-334 и кумарина С-525, как физических активаторов с целью уточнения значений и количества точек ферментативной активности.

Комплекс CytC-CL отличается от нативного CytC по следующим свойствам: (1) обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков; (2) теряет поглощение в полосе Соре (405–410 нм), отражающей наличие связи Fe(heme)·S(Met80); (3) обладает ферментативной активностью и катализирует образование липидных радикалов в мембране, которые запускают цепной процесс перекисного окисления липидов. Данный процесс можно наблюдать по ХЛ, как нативной, так и активированной, так же определять количество и величину точек ферментативной активности.

Для того чтобы сделать моделирование величины и количества точек ферментативной активности, нужно учесть, что: (a) ферментативная активность зависит как от концентрации CytC, так и от соотношения определяющего процент абсолютного количества денатурированной формы; (b) величина точек ферментативной активности наблюдалось при усилении ХЛ; (c)механизм усиления ХЛ – перенос энергии от молекулы кетона в электронно-возбужденном состоянии на флуоресцентный уровень кумарина С-334 или кумарина С-525.

# РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ПЕРИТУБУЛЯРНЫХ МИОДНЫХ КЛЕТОК

***А. К. Лейберова*[1, 2], *В. В. Хрипкова*[1], *Ю. С. Храмцова*[1, 2]**

[1]Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, 620000, Екатеринбург, ул. Ленина, 21; *anna.leyberova@list.ru*

[2]Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, 620049, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

Перитубулярные миодные клетки (ПМК) составляют вместе с эпителиосперматогенным слоем структуру семенных канальцев. На сегодня известно, что кроме выполнения регуляции движения сперматозоидов, ПМК паракринно регулируют сперматогониальные стволовые клетки, а также клетки Сертоли и Лейдига. Использование первичных культур клеток семенника в качестве экспериментальной модели может помочь исследовать актуальные вопросы, связанные с регуляцией сперматогенеза. Однако получение первичной культуры, содержащей только ПМК, является проблемой. Поэтому нами была поставлена цель – разработать методику получения первичной культуры ПМК.

Первичную культуру ПМК получали из семенников крыс линии Wistar, возрастом 8 (3 самца) и 3 месяца (4 самца). В стерильных условиях извлекали семенники, обеззараживали, промывали фосфатным буфером (PBS) в чашке петри, удаляли капсулу, подвергали ферментативной дезагрегации, используя разные способы. Суспензию фильтровали (сито 100 мкм). Центрифугировали при разных режимах. Супернатант сливали, к осадку добавляли питательную среду. Культивировали клетки в культуральном флаконе с обработанной поверхностью. Инкубировали в $CO_2$ термостате (37°C и 5% $CO_2$). Считали клетки в камере Горяева. Идентифицировали окрашиванием микропрепаратов гематоксилин-эозином и толуидиновым синим, проводили ИГХ-анализ с использованием антител к гладкомышечному актину. Жизнеспособность клеток оценивали МТТ при каждой генерации с последующим пассажем. Субкультивирование проводилось при образовании монослоя.

Первичную культуру ПМК удалось получить из образцов семенников 3-месячных крыс (из семенников 8-месячных крыс культивировать ПМК не удалось). ПМК самостоятельно адгезировались на 3 сутки. От клеток сперматогенного ряда культура была отмыта к 4 суткам, а получение чистой линии ПМК пришлось на 7 сутки, в тот же день было выполнено первое субкультивирование. Субкультура первая насчитывала 2 млн клеток, вторая (11 сутки) - 3,5 млн (жизнеспособность 53%), третья (18 сутки) – 2,5 млн (49% жизнеспособность). Оценка жизнеспособности клеток третьей субкультуры показала 51% на 22 сутки, 60% - на 26 и 23% – на 29 сутки.

Полученная культура ПМК семенника – первичная нормальная монослойная культура, на 7 сутки переходит в клеточную линию с 1-м пассажем, живет 30 суток. Данная линия подходит для кратковременных исследований и использования ее в качестве экспериментальной модели. При разработке методики получения культуры ПМК выделены наиболее успешные манипуляции: состав питательной среды: RPMI, 10% фетальной телячьей сыворотки, 1% антибиотика; ферментация: 1 этап - трипсин-ДНКаза (0,25 мг/мл и 1 мкг/мл) 15 минут, 37°C, 2 этап – коллагеназа-ДНКаза (1 мг/мл и 1 мкг/мл) 15 минут, 37°C; центрифугирование 5 минут, 400 g; в фильтрации через сито нет необходимости.

# БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ СВИНЕЙ ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНЫХ ИНЪЕКЦИЯХ СУСПЕНЗИИ АЛЛОГЕННОГО МИНЕРАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА КОСТИ

***И. Н. Лемба, Э. М. Тчанг, Е. В. Писарева, М. Ю. Власов***
Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, 443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34; *mvlasov1@rambler.ru*

Оценка безопасности новых лекарственных препаратов является важной задачей на доклиническом этапе исследования. В связи с этим в настоящей работе было изучено влияние внутримышечного введения суспензии минерального костного компонента (МКК) на различные биохимические показатели крови свиней.

МКК получали по запатентованной технологии из раствора после деминерализации компактной костной ткани. Эксперименты проводили на 10 свиньях породы «Ливенская». Животным контрольной группы делали внутримышечные инъекции стерильного физиологического раствора. Животным экспериментальной группы делали внутримышечные инъекции суспензии аллогенного МКК в стерильном физиологическом растворе в дозе 100 мг/кг. Забор крови производился на 1-й и 14-й день после экспериментальных воздействий. В сыворотке крови определяли активность ферментов (щелочной фосфатазы, АЛАТ, АСАТ, ЛДГ, ГГТП), уровень холестерина, триглицеридов, глюкозы, общего белка, С-реактивного белка, кальция, фосфатов, IgE, мочевины и креатинина.

В результате исследования установлено, что введение МКК не приводило к значимым изменениям биохимических показателей крови. Отсутствовали изменения показателей напряжения иммунной системы и развитие воспалительных реакций. В частности, не обнаружены изменения уровня С-реактивного белка и IgE. В исследовании также не установлено повышение плазменных маркеров возможного поражения клеток внутренних органов (АЛАТ, АСАТ, щелочная фосфатаза и др.) при введении МКК. Через 14 суток после инъекции МКК уровни глюкозы и общего белка снизились, концентрация креатинина увеличилась, активность ГГТП повысилась, однако отмеченные изменения не выходили за границы физиологической нормы для данного вида животных.

В результате исследования установлена безопасность минерального компонента кости и отсутствие у него токсических свойств. В связи с этим рекомендуется проведение доклинических исследований эффективности на патогенетических моделях.

# СОЗДАНИЕ ЗАМКНУТЫХ АВТОКАТАЛИТИЧЕСКИХ БИОСИСТЕМ ДЛЯ СИНТЕЗА ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА

***А. В. Локтева***
Национальный исследовательский университет ИТМО, 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9; *lokteva@scamt-itmo.ru*

Проблема терапии хронических ран заключается в многофакторных причинах их возникновения. Зачастую это нарушениях процессов ангиогенеза и контаминации поверхности ран патогенными микроорганизмами. Для решения этой проблемы необходимо создать терапевтический агент, способный воздействовать на несколько причин возникновения хронических ран. В качестве системы, способной к мягкой регуляции как процессов ангиогенеза, так и регулирование количества патогенных культур, предлагается использование пробиотические биосистемы, работающих за счет взаимодействия пробиотических бактерий с наночастицами, заключенных в гидрогель.

Данная научная работа нацелена на создание живых гибридных материалов для лечения инфекционных заболеваний. В первую очередь, необходимо подобрать пробиотические бактериальные культуры, наночастицы, которые способны стимулировать рост выбранных пробиотических бактерий и активировать синтез антимикробных молекул, пребиотики и носитель в виде гидрогеля.

В ходе исследования были подобраны пробиотические бактерии *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, которые являются представителями нормофлоры человека. Подобранные наночастицы диоксида титана имели положительный эффект на рост пробиотических культур в концентрации до 1мг/мл, стимулировали синтез перекиси водорода до 70 мкмоль/мл через 3 часа совместного инкубирования и их комбинация с лактобактериями отрицательно влияла на рост *Escherichia coli* K12 и *Staphylococcus aureus* MRSA, снижая их количество в среднем от $5{,}1 \cdot 10^9$ КОЕ до $7{,}4 \cdot 10^7$ КОЕ через 3 часа. Также наночастицы и гидрогель не имели отрицательного влияния на рост и активность HPF клеточной линии. Результаты экспериментов на смоделированных раневых поверхностях у крыс показывают, что полученный живой гибридный материал имеет улучшенные показатели ранозаживления в 4 раза через 21 день эксперимента.

Результаты, полученные в данном исследование, указывают на перспективу использования живых гибридных материалов как нового способа борьбы с инфекционными заболеваниями *in situ*.

*Работа поддержана грантом РНФ № 19-74-00125.*

# ВЭБ-1 И ВЭБ-2 КАК МАРКЕРЫ ВИРУСА У БОЛЬНЫХ РАКОМ НОСОГЛОТКИ В РОССИИ

***А. К. Лубенская***
НМИЦ Онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115522, Москва, Каширское шоссе, 23; *lubenskaya.96@mail.ru*

Структурные особенности вируса Эпштейна – Барр (ВЭБ) имеют определяющее значение для проявления его биологических свойств. На основе различий в последовательностях генов EBNA2, EBNA3A, - B и C идентифицированы два типа вируса, ВЭБ-I и ВЭБ-2, обладающие разной способностью трансформировать В-клетки in vitro, и возможно играющие разную роль в возникновении ВЭБ-ассоциированных опухолей. Поскольку заболеваемость раком носоглотки (РНГ) характеризуется, также как и инфицированность ВЭБ-1 и ВЭБ-2, географической и этнической вариабельностью. Исходя из сказанного, цель данной работы состояла в сравнительном изучении распространённости ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у больных РНГ и больных другими, не ассоциированными с ВЭБ опухолями полости рта.

Для изучения использовали образцы плазмы крови больных раком носоглотки (РНГ) и другими опухолями головы и шеи (ДОГШ), поступивших для обследования и терапии в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Среди больных РНГ встречались два гистологических варианта опухоли: ороговевающий и неороговевающий недифференцированный рак. Последний вариант был представлен случаями, ассоциированными с ВЭБ. Чтобы выяснить, связан ли РНГ в России с 1-м или 2-м типом ВЭБ, образцы плазмы крови больных РНГ изучали на инфицированность обоими типами вируса, далее проводилась гнездовая ПЦР, с помощью последующего гель-электрофореза определяли тип ВЭБ, а полученные данные сопоставляли с результатами аналогичного тестирования больных ДОПР, не ассоциированных с ВЭБ. Результаты и обсуждения. У больных РНГ преобладал второй тип вируса (ВЭБ-2-59% против ВЭБ-1-41%). Напротив, у больных ДОПР несколько чаще встречался его 1-й тип (ВЭБ-1-54% и ВЭБ-2-46%). В обоих случаях, у больных РНГ и ДОПР, различия между процентным содержанием типов вируса были статистически недостоверными.

Полученные результаты, свидетельствуют о том, что генетические особенности популяции и факторы окружающей среды, существенным образом влияя на репликацию ВЭБ, не влияют на выбор персистирующего типа вируса, и что, таким образом, ни один из его типов не обладает преимуществом в индукции процесса, приводящего к возникновению РНГ.

*Работа поддержана грантом РНФ № 23-25-000435.*

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ НИТЧАТЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ С ПОМОЩЬЮ ПРОГРАММЫ IMAGEJ (НА ПРИМЕРЕ *PLANKTOTHRIX AGARDHII*)

***Т. А. Лукашова*, *Н. А. Старцева***
Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, просп. Гагарина, 23; *lukatania@bk.ru*

В экологических исследованиях обилие фитопланктона традиционно определяется путем прямого подсчета клеток водорослей под микроскопом в счетной камере в аликвоте пробы, отобранной на водоеме, и выражается в тыс. или млн кл./л. Для этого используется счетная камера Нажотта площадью 1 $см^2$, глубиной 0,1 мм и общим объемом 0,01 мл. Дно камеры расчерчено на 40 вертикальных полос. При подсчете численности цианобактерий в 1 л или 1 $м^3$ число клеток умножается на коэффициент, связывающий площадь (объем) просмотренных полос с общей площадью (объемом) камеры.

Нитчатая цианобактерия *Planktothrix agardhii* может вызывать «цветение» воды, достигая численности в десятки и сотни миллионов клеток в литре. Трихомы *P. agardhii* до 300 мкм длиной состоят из цилиндрических клеток, ширина которых в трихоме постоянна (2,5-9,0 мкм). Известно, что данный вид продуцирует гепатотоксины, оказывающие токсическое действие на мышечные клетки и гепатоциты печени. По нормам Всемирной организации здравоохранения численность *P. agardhii* в 20 млн кл./л уже представляет опасность для здоровья. В связи с этим точное определение численности клеток этой цианобактерии представляется актуальным. Однако при большой плотности популяции *Planktothrix* нити в счетной камере наслаиваются друг на друга, что затрудняет и замедляет процесс прямого подсчета не только клеток, но и трихомов.

В связи с этим, целью настоящей работы было определение численности клеток *P. agardhii* в программе ImageJ. Трихомы были сфотографированы на фотокамеру смартфона в камере Нажотта при 1000-кратном увеличении. Для их измерения использовали окуляр-микрометр с ценой деления линейки 1 мкм. Фотографии поля зрения открыли в ImageJ, измерили длину линейки с помощью инструмента Straight. Затем в разделе Analyze выбрали пунк Set Scale. В разделе Known distance ввели размер линейки в микрометрах, в пункте Unit of length – единицы измерения μ (микрометры) и нажали OK. Зафиксировав таким образом длину линейки в пикселях, кликнув правой клавишей мыши по окну с изображением и выбрав Duplicate, создали копии фотографий и построили прямые линии поверх каждой нити *Planktothrix* с помощью инструмента Straight, одновременно нажимая клавишу M для вывода результатов в таблицу, в которой отобразилась информация о количестве нитей в поле зрения и длине каждой из них в мкм. Для определения средней длины трихомов достаточно измерить 20-25 нитей. Зная площади поля зрения и счетной полоски камеры, количество нитей в поле зрения, их среднюю длину и среднее число клеток в них, а также длину самой клетки, можно подсчитать число клеток *P. agardhii* в камере, а затем и в литре. Данная процедура предлагается нами как простой, быстрый и дешевый способ определения числа клеток нитчатых цианобактерий.

# СНИЖЕНИЕ БИОДОСТУПНОСТИ МЕДИ КАК СТРАТЕГИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

***Д. Н. Магазенкова***

[1]Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29; *magdash@mail.ru*

[2]Национальный исследовательский университет ИТМО, 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9

Медь входит в группу жизненно важных элементов и участвует в таких процессах, как клеточное дыхание, антиоксидантная функция, сигналинг и др. Было показано, что медь выступает кофактором для ряда ферментов, связанных с неоваскуляризацией, пролифирацией и миграцией клеток, что используется опухолями для роста и метастазирования. В связи с этим снижение биодоступности меди может являться новой стратегией подавления опухолевого роста. Для проверки данного предположения в работе были использованы наночастицы серебра (НЧС), чьи ионы имеют сходные с Cu(I) электронные оболочки и вследствие чего включаются в активные центры купроэнзимов. К таким купроэнзимам относится церулоплазмин (ЦП), основной внеклеточный транспортер меди, который является ее донором и для опухолей. Таким образом, целью данной работы являлось изучение влияния снижения статуса меди в организме на скорость роста перевитой мышам солидной аденокарциномы Эрлиха (сАЭ).

В работе использовали 2-месячных самок мышей линии BALB/c весом ~20 г., которые были разделены на группы по 23 мыши: 1) интактные мыши; 2) мыши, получающие НЧС внутрибрюшинно (в/б); 3) мыши, получающие НЧС подкожно в ногу; 4) мыши с перевитой сАЭ, 5) мыши с перевитой сАЭ, получающие НЧС в/б, 6) мыши, с перевитой сАЭ, получающие НЧС введением в область рядом с опухолью. При перевивке опухоли мышам внутримышечно в ногу вводили 1 млн. клеток АЭ. Сферические НЧС размером 30 нм вводили в/б и подкожно в ногу в концентрации 2мг/кг и 0,2мг/кг, соответственно. На 14 день у 3 мышей каждой группы собирали образцы печени, опухоли и крови. Оставшиеся мыши были использованы для определения выживаемости.

Мыши, получавшие НЧС в область рядом с опухолью, показали более высокую выживаемость по сравнению с мышами, не получавшими НЧС, в то время как в/б введение НЧС, наоборот, приводило к снижению продолжительности жизни мышей с сАЭ. Рост опухоли во всех группах приводил к увеличению уровня ЦП в крови, но уровень его оксидазной активности различался. В/б введение НЧС снижало ферментативную активность ЦП практически до нуля, в то время как локальная обработка НЧС снижала функции белка до контрольных значений.

Анализ экспрессии генов метаболизма меди и Cu-регулируемых факторов показал, что в печени рост сАЭ приводит к увеличению экспрессии генов DMT1, ATOX1, Cp и MT1, а также HIF, LOXP и TNFa. При этом введение НЧС способствует снижению экспрессии гена HIF относительно группы с сАЭ, не обработанной НЧС, а локальное введение НЧС дополнительно снижает экспрессию генов LOXP, TNFa и VEGFa. В опухоли получение НЧС достоверное снижало экспрессию генов VEGFa и VEGFR1.

Полученные результаты демонстрируют, что обработка опухолей НЧС достоверно снижает скорость роста сАЭ, что указывает на возможность их использования в качестве терапевтического средства.

*Работа поддержана грантом РНФ 20-74-10087.*

# АКТИНОМИЦЕТЫ-ПРОДУЦЕНТЫ АНГОЛОМИЦИНА И ИХ ПЕРСПЕКТИВЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ

***А. В. Макарова***
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1; *alinavm19@gmail.com*

Актиномицеты – бактерии с высокой долей ГЦ-пар в геноме, – являются богатым источником вторичных метаболитов с разной биологической активностью, в том числе антибиотиков. По прогнозам аналитиков ВОЗ к 2025 г. многие антибактериальные средства потеряют свою эффективность, а к 2050 г. резистентность штаммов приведет к увеличению общей смертности на десять миллионов случаев в год. Поэтому поиск новых антибиотиков или более глубокое исследование уже известных субстанций являются актуальными подходами, позволяющими осуществлять эффективный контроль над патогенами.

Целью работы было раскрытие биотехнологического потенциала актиномицетов, продуцирующих анголамицин, выделенных из различных почв на территории России.

В ходе широкомасштабного скрининга почв России по обнаружению актиномицетов-продуцентов антибиотиков с привлечением возможностей «гражданской науки» были обнаружены штаммы, синтезирующие анголамицин - антибиотик макролидной природы, впервые описанный Корбазом в 1955 г., механизм действия которого, однако, остается недостаточно изученным.

Выявление и определение механизма антибиотического действия проводилось с помощью репортерных штаммов *Escherichia coli: dtolc* и *lptd*, содержащих плазмидную конструкцию pDualrep2, которая позволяет обнаруживать сходные по механизму действия, но разнообразные по строению антибиотики. По результатам оценки ингибирования роста репортерных штаммов были отобраны актиномицеты, вызывающие экспрессию флуоресцентного белка Katushka2S, что свидетельствует о нарушении работы рибосомы. Активные продуценты подвергались глубинному культивированию, затем ферментационную жидкость подвергали твердофазной экстракции с использованием сорбента LPS500-H, выявляли активную фракцию с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и затем определяли массы активных соединений методом масс-спектроскопии.

В процессе работы были отобраны два штамма с выраженным механизмом ингибирования трансляции. Проведено секвенирование гена 16s рРНК данных микроорганизмов, описаны культуральные и морфологические признаки, в том числе характер поверхности спор при помощи сканирующего электронного микроскопа. На основании полученных данных была выдвинута гипотеза о том, что оба штамма принадлежат к виду *Streptomyces phaeochromogenes* и продуктом биосинтеза является антибиотик - анголамицин или его производные.

Данный антибиотик обладает значительным биотехнологическим потенциалом благодаря антимикробной активности против некоторых грамположительных бактерий.

# ИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ПРИТОКОВ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ С УЧЕТОМ РЕГИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОД

***Е. М. Макарова***
Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН, 185030, Петрозаводск, просп. Александра Невского, 50; *emm777@bk.ru*

Реки Лососинка и Неглинка – притоки Онежского озера, в нижнем течении протекающие по территории г. Петрозаводска. По данным гидрохимического анализа, установлено, что на всем своем протяжении химический состав рек отражает влияние водосборной заболоченной территории: высокие показатели гумусности, цветности, содержания железа, пониженные значения pH. Выявлена высокая антропогенная нагрузка на реки Лососинку и Неглинку. Годовой объем ливневых стоков составляет 30% от объема речных вод, в ливневых стоках отмечено превышение ПДКрх для БПК5 в 1.2–94.3 раз, взвешенных веществ – в 1.2–132 раз, нефтепродуктов – в 1.9–78.6 раз. При этом несмотря на высокое содержание загрязняющих веществ в ливневых стоках, в речных водах их концентрации редко превышают ПДКрх, что связано с хорошим насыщением воды кислородом (до 96%) и разрушением ОВ. Специфика химического состава речных вод (заболоченная водосборная территория) могла повлиять на развитие в них микробиоты и, следовательно, на возможность применения для биоиндикации общепринятых классификаций качества вод по микробиологическим показателям.

По количественному развитию на различных участках изученных рек выявлено сильное варьирование микробиологических показателей. При этом минимальные и максимальные величины физиологических групп бактериопланктона существенно разнились: для общей численности бактерий – в 3–30 раз, сапрофитных бактерий – в 21–1962 раз, олигокарбофильных – в 19–2903 раз, фенолрезистентных – в 27–1840 раз, углеводородокисляющих бактерий – в 19–2903 раз, БГКП – в 218–19512 раз. В сезонном аспекте для рек Лососинки и Неглинки по критерию Крускал – Уоллиса не установлено значимых изменений численности бактериопланктона. В пространственном распределении по результатам метода PCA для рек Лососинки и Неглинки показано заметное разделение всех проб на две группы: пробы загородных участков рек и пробы их городских участков.

С привлечением данных по притокам Онежского озера, характеризующимися как средне- и высокогумусные реки, по результатам PCA была выявлена связь бактериопланктона с БПК5, поступающего с ливневыми стоками и отражающего влияние антропогенного фактора. Поэтому посчитали возможным использование комплексных классификаций качества воды, предназначенных для выявления антропогенно-измененных участков водных объектов. Применили экологическую классификацию качества поверхностных вод суши О.П. Оксиюк с соавторами, используя для химической индикации показатели, отражающие только антропогенное воздействие. Была выявлена высокая сходимость результатов по гидрохимическим и микробиологическим показателям (коэффициент корреляции Спирмена – 0.6). Таким образом, анализ подтверждает применимость общепринятых классификаций для оценки качества вод высокоцветных притоков по микробиологическим показателям.

*Работа выполнена в рамках темы Госзадания № 0185-2021-0007 Института водных проблем Севера КарНЦ РАН.*

# ВЛИЯНИЕ СЛУЧАЙНЫХ ПРОЦЕССОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ГЕНЕРАЦИИ НЕЙРОПОДОБНЫХ СИСТЕМ

***Е. Е. Максина*, *Е. В. Панкратова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*avelusha.rrr@gmail.com*

Случайные процессы, обусловленные спецификой рассматриваемых систем, могут приводить к существенному изменению режимов их функционирования. С одной стороны, шум может оказывать негативное влияние: в частности, для нейроподобных систем шум может приводить к снижению надежности и точности передачи информационных сигналов. С другой стороны, случайные процессы могут способствовать улучшению характеристик, демонстрируя конструктивное воздействие на систему, например, способствуя возникновению более регулярных ритмов в динамике мембранного потенциала.

В данной работе изучение влияния шума проводится в рамках математического моделирования на основе использования формализма Ходжкина-Хаксли. Исследованы возможные динамические режимы поведения мембранного потенциала, наблюдаемые в детерминированном случае и под влиянием шума. Для изолированной нервной клетки был проведен анализ роли различных значений параметра внешнего тока и различных начальных условий. Показано существование областей моностабильного и бистабильного поведения нейроподобной системы. При этом для области моностабильного поведения характерны генерация импульсов или ее отсутствие, для области бистабильного поведения наблюдалось сосуществование колебательного и равновесного режимов. Учет влияния шума позволил продемонстрировать, что среднее время межимпульсного интервала на выходе нейроподобной системы существенно зависит как от интенсивности шума, так и выбора режима функционирования клетки в детерминированном случае. Одновременно с вычислением среднего значения межимпульсного интервала проводился анализ значений среднеквадратического отклонения межимпульсных интервалов. Также было проанализировано отношение «шум-сигнал», которое определяется отношением среднеквадратического отклонения межимпульсных интервалов к их среднему. Было показано, что величина максимумов на графиках исследуемых характеристик изменяется при различных значениях параметра внешнего тока, при этом значение интенсивности шума, для которого наблюдается максимум среднего значения межимпульсных интервалов, смещается. Сохранение наблюдаемых эффектов продемонстрировано и для системы, моделирующей взаимодействие нервных клеток посредством электрических и химических синапсов.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации на государственную поддержку ведущих научных школ № НШ-2653.2020.2.*

# МОДИФИКАЦИЯ ПОРООБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АМФОТЕРИЦИНА Б МАЛЫМИ МОЛЕКУЛАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

***А. И. Малыхина*, *С. С. Ефимова*, *О. С. Остроумова***
Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Тихорецкий просп., 4;
*anja12@yandex.ru*

Амфотерицин Б (АмБ), благодаря своему широкому спектру действия, низкой устойчивости патогенных штаммов и высокой клинической эффективности, остается золотым стандартом в лечении серьезных системных грибковых инфекций. Главным механизмом действия АмБ считается образование комплексами АмБ и эргостерина пор в плазматической мембране грибов, что приводит к утечке электролитов и других молекул из внутриклеточной среды и последующей гибели клетки. Причиной высокой токсичности этого противогрибкового агента является возможность формирования комплексов с холестерином и последующего образования пор в мембранах клеток млекопитающих.

Целью данного исследования являлся поиск малых молекул, которые могли бы потенцировать порообразующую активность АмБ, в результате чего использование комбинации АмБ и малой молекулы позволило бы снизить действующую концентрацию антибиотика, а следовательно, токсичность без изменения его противогрибковой эффективности. Поиск проводился среди малых молекул растительного происхождения, которые являются малотоксичными соединениями, проявляют широкий спектр биологической активности, а также используются при разработке улучшенных форм известных антибиотиков. Используя метод регистрации токов, протекающих через плоские липидные бислои, сформированные по методу Монтала и Мюллера из 1-пальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина и эргостерина в молярном соотношении 2:1, проведена оценка влияния полифенолов в концентрации 100 мкМ и алкалоидов в концентрации 400 мкМ на порообразующую активность АмБ при его односторонней добавке относительно мембраны.

Установлено, что двухстороннее введение в мембраноомывающий раствор нарингенина, таксифолина, флоретина, флорицина, ресвератрола, катехина, кверцетина и хинина приводило к увеличению трансмембранного тока, индуцированного АмБ, в 2-7 раз. Для выяснения возможного механизма действия малых молекул на АмБ-индуцированный трансмембранный ток была проведена адсорбционная спектроскопия суспензии липосом, модифицированных АмБ и/или малыми молекулами. Установлено, что тестируемые соединения не меняют концентрацию АмБ в липосомах. Сделано заключение, что увеличение АмБ-индуцированного трансмембранного тока не связано с увеличением концентрации полиена в липидной мембране, а вероятно, является результатом изменения упругих свойств мембраны в присутствии малых молекул. Полученные результаты могут быть в дальнейшем использованы при разработке лекарственных препаратов на основе комбинации АмБ и растительных молекул.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (№ 22-74-10023).*

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА УЧАСТКА Р. РАХМА (Д. РЖАВКА, Г. НИЖНИЙ НОВГОРОД) МЕТОДОМ *ALLIUM* TEST

***М. В. Маркина*, *Т. А. Лукашова*, *Н. А. Старцева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*mary333222111@mail.ru*

Исследована токсическая и мутагенная активность воды реки Рахма в районе д. Ржавка (г. Нижний Новгород). В качестве биологической тест-системы использован лук репчатый (*Allium cepa*) сорта Штутгартен Ризен. Контролем служила дистиллированная и водопроводная вода. Были оценены митотическая активность (митотический индекс, МИ), частота патологического митоза (ПМ), выявлены типы нарушений митоза в апикальной меристеме корней тест-объекта. Достоверность различий полученных результатов оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Статистическую обработку данных проводили с использованием Microsoft Excel 2010.

Точка отбора проб воды находилась на юго-восточной окраине д. Ржавка (координаты: 56.23297, 44.10823, дата отбора 28.07.2022 г.). Ширина реки в данной точке составила 4,5 м, глубина – 0,5-0,7 м, берега илистые, высотой около 1,5 м с наносами грунта, заросшие кленом американским. Вода в реке мутная, с неприятным запахом. Воды гидрокарбонатные, группы Ca, II типа, загрязнены нитритными и нитратными формами азота. Высокое содержание соединений азота в воде связано с их поступлением с поверхностными и несанкционированными бытовыми стоками пригородных населенных пунктов, а также стоками промышленных и животноводческих предприятий (конный клуб «Станица вольная»). Превышение ПДК антропогенных загрязнителей (металлов и органических поллютантов) не обнаружено.

Уровень митотической активности (МИ) клеток апикальной меристемы корней лука репчатого был достаточно высоким (до 51%). Однако данный показатель оказался ниже на 7-10% МИ контроля (водопроводная и дистиллированная вода соответственно). Показано, что при высоком МИ тест-объекта подавляющее большинство клеток находилось в стадии профазы. Известно, что это часто обусловлено повреждениями надмолекулярной структуры хромосом, препятствующими переходу на последующие стадии митоза. Частота нарушений митоза (ПМ) опытного образца составила 2,63 %. Уровень спонтанного мутирования тест-объекта в контроле (водопроводная вода) составил 2,0 %, а в контроле с дистиллированной водой – 2,56 %. Статистически значимых отличий данных опыта и контроля не установлено.

Основными нарушениями митоза во всех опытах являлись нарушение веретена деления (50-78% всех случаев ПМ), полиплоидия (17-39%), наличие фрагментов хромосом (7-13 %), единичны случаи слипания хромосом в телофазе, отставания хромосом в мета- и анафазах, хромосомные мосты. Наибольшее число случаев ПМ наблюдалось в контроле (дистиллированная вода), что подтверждает литературные данные о нецелесообразности ее использования в качестве контроля.

Таким образом, вода р. Рахмы в точке отбора в период исследования не обладала цито- и генотоксическими эффектами на тест-объект.

# ИССЛЕДОВАНИЕ РАННИХ ДИСФУНКЦИЙ В НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНОЙ СЕТИ ГИППОКАМПА МЫШЕЙ С МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

***М. В. Матвеева*, А. А. Федулина, К. Е. Мальцева, А. В. Лебедева**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*m.matveeva288@gmail.com*

Болезнь Альцгеймера – это нейродегенеративное заболевание, у людей пожилого возраста, начинающееся задолго до появления клинических симптомов, и, по прогнозам, в ближайшие десятилетия оно будет экспоненциально увеличиваться. Было предложено множество гипотез о причинах возникновения и механизмах развития БА, но точные патофизиологические процессы лежащие в основе развития заболевания до сих пор неизвестны.

До недавнего времени основной мишенью для исследования ассоциированного с БА были нейронные сети. Возможный астроцитарный вклад в развитие болезни в значительной степени игнорировался. Однако, астроциты являются неотъемлемой частью мозга, а реактивность астроцитов является ранним признаком развития заболевания, потенциально обеспечивая перспективную мишень для доклинической диагностики и лечения. В животных моделях БА астроциты подвергаются дегенерации и атрофии на ранних стадиях патологического процесса, что, возможно, может изменить гомеостатический резерв мозга и способствовать раннему когнитивному дефициту. На ранних стадиях прогрессирования болезни БА происходят метаболические изменения в мозге.

В связи с этим целью исследования является изучение функционирования нейрон-астроцитарной сети в гиппокампе мышей с моделью болезни Альцгеймера в досимпоматическом периоде. Эксперименты проводились на переживающих срезах гиппокампа генномодифицированной линии мышей 5xFAD, имеющей мутации генов, характерные для болезни Альцгеймера. Для проведения экспериментов были взяты половозрелые самцы возрастом 1-1,5 месяца.

В ходе работы была проведена оценка когнитивно-мнестических способностей не выявившая различий в испытуемых группах. В то время как при исследовании функциональной кальциевой активности астроцитов было показано, что у мышей 5xFAD наблюдалось увеличение частоты и количества ответов, а также количественное увеличение астроцитов (астроглиозис). Это указывает на то, что астроциты претерпевают изменения на ранних стадиях развития БА, до проявления выраженных когнитивных дисфункций. Кроме того, было выявлено снижение уровня долговременной синаптической потенциации у мышей 5xFAD относительно контрольной группы. Следует отметить, что обратный захват нейромедиаторов астроцитами, который может быть нарушен у животных линии 5xFAD, играет важную роль в генерации и поддержании долговременной пластичности.

Так было показано, что во время синаптической передачи астроциты принимают важное участие в механизме обратного захвата нейромедиаторов, который может быть нарушен у животных линии 5xFAD. Таким образом, данная работа показывает наличие ранних нарушений в астроцитах при развитии болезни Альцгеймера у генномодифицированной линии мышей, что важно для ранней диагностики и методов коррекции болезни Альцгеймера.

# МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС ПОСЛЕ СТРЕССОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ И КОРРЕКЦИИ МЕКСИДОЛОМ

***Е. В. Медведева*[1], *А. А. Гостюхина*[2], *В. В. Ярцев*[1], *С. С. Евсеева*[1]**
[1]Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*tulenfedorovich@gmail.com*
[2]Томский НИИКиФ ФФГБУ ФНКЦ МРиК ФМБА России, 634009, Томск,
ул. Розы Люксембург, 1

Известно, что десинхронозы и физическая нагрузка влияют на метаболические и гормональные процессы в организме и являются мощными стресс-факторами. Мексидол (этилметилгидроксипиридина сукцинат) является одним из адаптогенных препаратов, повышающих устойчивость организма при стрессорных воздействиях. Цель работы – изучение морфофункционального состояния надпочечников крыс в норме, при стрессорных воздействиях и при коррекции мексидолом. Исследованы 6 групп половозрелых крыс-самцов «Wistar»: группа 1 (n=8) – без воздействий, группа 2 (n=8) – животные, подвергавшиеся моделированию световой депривации (10 дней круглосуточно находились при полном затемнении 2-3 LX), группа 3 (n=8) – животные, подвергавшиеся физической нагрузке в тесте «принудительное плавание», группа 4 (n=8) – животные, подвергавшиеся моделированию полного переутомления (световая депривация и физическая нагрузка), группа 5 (n=8) – животные, которых подвергали моделированию полного переутомления и далее вводили 0,9 % раствор натрия хлорида инъекциями по 0,1 мл на 100 г массы животного и группа 6 (n=8) – животные, которых подвергали моделированию полного переутомления и далее вводили мексидол инъекциями по 0,1 мл 1 % раствора на 100 г массы животного. Животных выводили передозировкой $CO_2$-наркоза, извлекали надпочечники, фиксировали в 10 % забуференном формалине, обезвоживали, просветляли и заключали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином – эозином. По микрофотоснимкам вычисляли относительные площади мозгового вещества, коры, клубочковой, пучковой и сетчатой зон коры надпочечников, а также площадь, площадь ядер, объём ядер, площадь цитоплазмы и ядерно-цитоплазматическое отношение адренокортикоцитов. Кроме этого, анализировали уровень кортикостерона в сыворотке крови методом ИФА. Статистическую обработку проводили тестом Манна–Уитни.

Для групп 2, 3 выявлена гипертрофия ядер адренокортикоцитов при отсутствии увеличения цитоплазмы, уровень кортикостерона не изменялся, что может свидетельствовать об интенсивной экспрессии генов, соответствующей фазе тревоги общего адаптационного синдрома (ОАС). В группах 4, 5 также увеличивался размер ядер, однако уровень кортикостерона уменьшался в 2 раза, что свойственно фазе истощения ОАС. У группы 6 наблюдалось увеличение площади цитоплазмы при уменьшении размеров ядер, по сравнению с группами 2, 3, 4, 5, уровень кортикостерона также увеличивался, что говорит о развитии гормон-продуцирующих ультраструктур в цитоплазме, характерном для фазы резистентности ОАС.

Таким образом, показано, что десинхроноз и физическая нагрузка вызывают формирование стресс-реакции в организме крыс, сочетание факторов приводит к истощению организма, применение мексидола на фоне стрессорных воздействий ослабляет истощение и предупреждает развитие переутомления.

# ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА АКТИВАЦИЮ АСТРОЦИТОВ У МЫШЕЙ ЛИНИИ BTBR В НОРМЕ И ПРИ ДЕЙСТВИИ ОСТРОГО СТРЕССА В ПОДРОСТКОВОМ ПЕРИОДЕ

***Е. В. Межлумян*, *М. М. Колесникова***
Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1
ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск,
просп. Академика Лаврентьева, 10; *evavict@mail.ru*

Многие психопатологии, в том числе и расстройство аутистического спектра (РАС), сопровождаются аберрантными реакциями организма на действие хронического и острого стресса. Предполагают, что неправильный ответ на стресс может быть вовлечен в патогенез РАС. Возможным механизмом негативного влияния стресса на развитие заболевания может выступать нейровоспаление, которое наблюдается у людей с РАС и у некоторых животных моделей этой психопатологии. Однако не ясно может ли стресс в раннем возрасте изменять паттерн нейровоспаления в норме и в ответ на острый стресс в последующие периоды жизни, что требует проверки на животных моделях. Валидной моделью для изучения РАС являются мыши линии BTBR $T^{+}$ $Itpr3^{tf}$/J (BTBR), имеющие аутизм-подобное поведение, аберрантное функционирование иммунитета и изменения в стресс-реактивности. Таким образом, целью нашей работы стало изучение влияние раннего постнатального стресса на маркер нейровоспаления астроглии в норме и после предъявления дополнительного острого стресса в подростковый период у самцов мышей линии BTBR и C57Bl/6 (B6).

Для проведения эксперимента мышей линии BTBR и B6 подвергали стрессу в раннем возрасте: с 3 по 15 дни жизни их разлучали с матерью на 3 часа в день. Контрольные группы оставались без стрессового воздействия. Дополнительно в 41 день жизни для половины животных из каждой группы проводили рестрикцию в течение 1 часа, после чего происходил забор тканей.

Для оценки нейровоспаления проводился анализ уровня экспрессии гена GFAP (маркер активации астроглии) в образцах дорсального и вентрального гиппокампа, а также фронтальной коры, с помощью ПЦР в режиме реального времени.

В результате эксперимента было показано, что уровень экспрессии GFAP в гиппокампе и во фронтальной коре у мышей обеих линий не изменялся после действия раннего постнатального стресса.

В межлинейном сравнении наблюдались различия экспрессии гена GFAP в гиппокампе. Так, для BTBR характерен достоверно меньший уровень мРНК GFAP, чем для мышей B6. Добавление рестрикции приводило к еще большему снижению уровня GFAP в вентральном гиппокампе мышей BTBR по сравнению с соответствующими группами линии B6. Различий в экспрессии гена GFAP во фронтальной коре между линиями не наблюдалось.

Таким образом, мыши линии BTBR демонстрируют пониженную экспрессию гена GFAP в гиппокампе по сравнению с линией B6. Различия становятся более выраженными в его вентральной части под действием острого стресса рестрикции. Межлинейных различий в активации астроцитов фронтальной коры не выявлено. Также, показано, что опыт раннего постнатального стресса не влияет на активацию астроцитов гиппокампа и фронтальной коры у животных обеих линий.

*Исследование осуществлено по бюджетному проекту FWNR-2022-0016.*

# ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ ОТВЕТ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И КАТАЛАЗЫ БАКТЕРИЙ

***А. С. Мезга*, К. А. Онасенко, Т. Н. Ажогина, А. А. Плотников, И. С. Сазыкин**
Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344058, Ростов-на-Дону, просп. Стачки, 192/1;
*annamezga97@gmail.com*

Образование активных форм кислорода (АФК) представляет собой механизм бактериальной смерти, спровоцированной действием антибиотиков на бактериальную клетку. Ответом бактериальной клетки на образование АФК является повышение уровня антиоксидантных ферментов (антиоксидантный ответ). В данной работе будут рассмотрены такие ферменты как супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза, работающие совместно: СОД отвечает за преобразование супероксида в кислород и перекись водорода, а каталаза – за восстановление перекиси водорода до кислорода и воды. Целью нашей работы стало изучение влияния антибиотиков на проявление окислительного стресса в бактериальных клетках.

Для индукции окислительного стресса использовались такие антибиотики как тетрациклин, ампициллин, азитромицин, рифампицин, цефтриаксон. В качестве объекта исследования использовались штаммы *Acinetobacter calcoaceticus, Pseudomonas putida, Rhodococcus erythropolis*. Каждый штамм культивировался на средах, содержащих различные антибиотики, в течение 3 и 6 часов для возможности оценки качества продукции антиоксидантных ферментов за различные промежутки времени. Определение активности СОД осуществляли по методу Сироты, каталазы – по методике Королюк.

Продукция СОД увеличивалась после 6 часов культивирования бактерий в присутствии антибиотика в большинстве случаев у каждого штамма. Аналогичный результат наблюдается в отношении продукции каталазы штамм *R. erythropolis*, однако у штамма *P. putida* достоверной корреляции между временем культивирования бактерий с антибиотиком и уровнем активности фермента не обнаружено. Увеличение активности каталазы в клетках *A. calcoaceticus* не обнаружено. Повышение активности СОД наблюдалось в 70% случаев действия различных антибиотиков на культуру бактерий, каталазы – 47%.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и образования РФ в рамках проекта «Биореставрация загрязненных почвенных экосистем» (соглашение № 075-15-2022-1122) и Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета ("Приоритет 2030").*

# РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ IGG АНТИТЕЛ К ПОВЕРХНОСТНЫМ БЕЛКАМ *ECHOVIRUS 30* У ЛЮДЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

***Д. А. Мелентьев*[1, 2], *Э. А. Манакова*[3], *В. А. Лапин*[1, 2], *Е. В. Мохонова*[1], *М. И. Цыганова*[1], *Д. Е. Зайцев*[1, 2]**

[1]Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71; *dim-melente@yandex.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

[3]ООО «Централизованная лаборатория «АВК-Мед», , 603028, Нижний Новгород, Спортсменский пер., 12

*Echovirus 30* (E30) относится к неполиомиелитным энтеровирусам. По сравнению с менингитом, вызванным неполиомиелитными энтеровирусами других типов, заболевание, вызываемое вирусом E30, протекает в среднем тяжелее и продолжительнее. В России в отдельные годы доля обнаружения E30 достигала 40% от всех энтеровирусов, инфицирование которыми приводило к госпитализации. Высокий уровень летальности E30-инфекции указывает на необходимость разработки средств ее профилактики. В ННИИЭМ им. И.Н. Блохиной ведётся разработка прототипа вакцины для профилактики инфекции, вызываемой вирусом E30. Для оценки эффективности создаваемой вакцины, а также для изучения популяционного иммунитета разработан иммуноферментный метод определения антител класса IgG к структурным белкам вируса E30. Целью работы было сероэпидемиологическое исследование частоты обнаружения IgG антител к поверхностным белкам E30 у людей разных возрастных групп.

В исследовании принимали участие 333 человека в возрасте от 2 месяцев до 61 года. Участники исследования были разделены на 3 возрастные группы: дети – от 2 месяцев до 18 лет (n=128), молодые – от 19 до 44 лет (n=104) и среднего возраста – от 45 до 60 лет (n=101). Поверхностные белки VP1, VP2 и VP3 E30 были экспрессированы в *E. coli*. На их основе была разработан метод определения антител класса IgG в сыворотке крови с помощью ИФА.

Установлено, что частота обнаружения IgG к белку VP1 детей составила 29,6%, что было выше ($p<0,001$), чем у молодых и лиц среднего возраста (3,8% и 2,0% соответственно). Антитела к белку VP2 у детей обнаруживались также в 29,6%. Частота их обнаружения также была статистически значимо выше ($p<0,05$) чем у молодых и лиц среднего возраста (17,3% и 6,9% соответственно). Кроме того, отмечена разница между частотой обнаружения антител к VP2 у молодых и лиц среднего возраста ($p<0,05$). IgG антитела к белку VP3 у детей выявлены в 18,6% случаев, у молодых – в 10,6% случаев, а в группе лиц среднего возраста были выявлены всего в 2,0% случаев.

Полученные результаты свидетельствуют об относительно высокой частоте обнаружения IgG антител к трем поверхностным белкам E30 у детей, снижении частоты обнаружения по мере увеличения возраста и применимости разработанного метода для оценки эффективности прототипа вакцины для профилактики E30-инфекции.

# ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ НА БИОПЛЕНКИ, ФОРМИРУЕМЫЕ МИКРОФЛОРОЙ ПОЛОСТИ РТА

***А. П. Мельник*, Е. Ю. Тризна, Д. Р. Байдамшина, Л. Ф. Гафарова, О. В. Остолоповская, А. Р. Каюмов**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *amelnik200018@mail.ru*

Ротовая полость человека представлена различными видами микроорганизмов, окруженных матриксом, имеющим водные каналы, выполняющие роль транспорта питательных веществ, которые способны формировать полимикробные образования – бактериальные биопленки. Они способны колонизировать на поверхности твердых тканей зубов, образуя активную и сложную экосистему. Начало данным структурам дают первичные колонизаторы, в частности представители рода *Streptococcus* sp., которые являются одними из кариесогенных организмов. Поэтому разрушение сформированных биопленок и подавление их образования является перспективным подходом к замедлению образования зубного налета и предотвращения развитие кариеса. Целью работы было установить возможность деструкции биопленок, формируемых микрофлорой полости рта, при помощи гидролитических ферментов.

Начальным этапом работы было создание коллекция изолятов стрептококков. Для этого проводили посев мазка с поверхности зубов условно здоровых людей, которые высевали на кровяной агар. Затем проводили рассев до одиночных колоний тех клонов, вокруг которых наблюдается зона частичного гемолиза. Далее отобранные клоны идентифицировали при помощи секвенирования по 16S рибосомальной РНК.

Далее проводили оценку влияния гидролитических ферментов – субтилизинподобная протеаза, фицина, папаина – на подавление роста бактерий, образование и деструкцию сформированных биопленок *Streptococcus* sp. Для этого бактерии выращивали в 96-луночном планшете в течение 24 часов при 37°C в присутствии исследуемых ферментов. Ни один фермент не приводил к подавлению роста стрептококков и образования ими биопленки. При оценке разрушения сформированных биопленок и замедления их роста максимальную эффективность демонстрировала субтилизинподобная протеаза и в меньшей степени фицин и папаин.

Также была проведена оценка влияния фицина и субтилизинподобной протеазы на модельные биопленки, полученные путем посева мазка с зубов условно здоровых людей. Исследуемые ферменты приводят к значимой деструкции половины модельных биопленок *in vitro*.

Дополнительно было проведено метагеномное профилирование биопленок, полученных путем посева мазка с зубов. Модельные биопленки, получаемые путем посева мазка с зубов, по микробному составу значительно отличаются от нативного налета, и эффективность ферментов и их смесей может отличаться в реальных условиях.

*Работа выполнена с одобрения Локального этического комитета Казанского федерального университета (протокол № 39 от 22 декабря 2022 г.) и поддержана грантом РНФ (№20–64–47014).*

# МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТА *DELFTIA TSURUHATENSIS*, ВПЕРВЫЕ ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЫРОГО МОЛОКА

***А. Н. Меньшикова*[1, 2], *П. А. Андриянов*[1], *Д. Д. Кашина*[1, 2], *Е. А. Климентьева*[1, 2]**
[1]ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3;
*alena.menshikova.2013@mail.ru*
[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

В настоящее время во всем мире увеличивается удельный вес инфекционных патологий, связанных с появлением большой группы эмерджентных болезней. Среди них особую роль играют грамотрицательные неферментирующие бактерии (НФБ), которые являются одними из ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций. Клинически важной особенностью НФБ является высокая частота резистентности к различным классам антимикробных препаратов. *Delftia tsuruhatensis* относится к НФБ. Этот микроорганизм впервые был выделен из образцов окружающей среды и редко ассоциировался с инфекциями человека. Но за последние несколько лет он начал вызывать серьезные внутрибольничные заболевания, в том числе и с летальным исходом. Целью данной работы являлась микробиологическая характеристика изолята *D. tsuruhatensis* SRB-6, впервые выделенного из сырого коровьего молока.

В работе был использован изолят SRB-6, выделенный из образца непастеризованного коровьего молока в ходе исследований, связанных со скринингом бактерий с множественной лекарственной устойчивостью в сыром коровьем молоке. Молоко было получено от различных розничных продавцов в г. Нижний Новгород в период с декабря 2021 по февраль 2022 года.

Идентификация изолята SRB-6 была проведена путем анализа последовательности гена 16s рРНК. Консенсус был сравнен с референсными последовательностями базы данных EZBioCloud. Последовательность гена 16s рРНК изолята SRB-6 была на 100% идентична референсным последовательностям видов *D. tsuruhatensis* и *D. lacustris*. Для уточнения видовой принадлежности был определен биохимический профиль с помощью тест-системы «НЕФЕРМтест 24». На основании этого изолят был идентифицирован как *D. tsuruhatensis*. Для описания культурально-морфологических свойств был произведен посев культуры на 5% кровяной агар техникой истощающего штриха. Изолят имел типичный грамотрицательный морфотип, клетки бациллярной формы; колонии точечные, молочного цвета, обнаружен гамма-гемолиз.

Оценка спектра чувствительности к антибиотикам была проведена с помощью диско-диффузионного метода (EUCAST 2022). Изолят SRB-6 был устойчив к нескольким классам антибиотиков: бета-лактамам, аминогликозидам, хлорамфениколу, триметоприм-сульфаметоксазолу. Чувствительность была обнаружена к фторхинолонам, тетрациклину, цефтазидиму-авибактаму.

Учитывая нарастающие темпы распространения данного патогена (особенно в нозокомиальных условиях), а также обнаружение у него фенотипа мультирезистентности, клиницисты должны знать о *D. tsuruhatensis* как об опасном условно-патогенном эмерджентном микроорганизме. Факт выделения из сырого коровьего молока потенциально предполагает его алиментарный путь передачи и расширяет наши знания об экологии данного возбудителя.

# МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ КОНЪЮГАТА МАСЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЛИПОФИЛЬНОГО КАТИОНА F16

***Н. В. Микина*[1], *А. А. Семенова*[1], *Д. А. Недопёкина*[2], *А. Ю. Спивак*[2], *Э. В. Давлетшин*[2], *Р. Р. Халитова*[2], *М. В. Дубинин*[1]**

[1]Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*natasamikina@gmail.com*
[2]Институт нефтехимии и катализа РАН

Известно, что маслиновая кислота, относящаяся к классу пентациклических тритерпеноидов, обладает антидиабетическими свойствами. Такое действие маслиновой кислоты, как предполагается, обусловлено ее способностью устранять развитие митохондриальной дисфункции и окислительного стресса. За счет наличия в молекулах легко трансформируемых функциональных групп (3-OH, 28-COOH) природные пентациклические тритерпеновые кислоты имеют высокий синтетический потенциал и активно используются в качестве перспективной структурной платформы в синтетических трансформациях, направленных на создание новых лекарственных средств.

В настоящей работе нами синтезирован новый конъюгат маслиновой кислоты и делокализованного катиона и изучены его митохондриально-направленные эффекты на изолированных митохондриях печени лабораторных крыс. В условиях *in vitro* эксперимента оценено влияние конъюгата на функциональное состояние митохондрий по скорости дыхания в присутствии глутамата/малата (субстраты комплекса I дыхательной цепи) или сукцината (субстрат комплекса II) в присутствии ротенона.

Установлено, что маслиновая кислота в концентрациях 10–20 мкМ не влияет на скорость дыхания органелл во всех метаболических состояниях как в присутствии глутамата и малата, так и сукцината/ротенона. В то же время конъюгат маслиновой кислоты и F-16 уже в концентрации 2 мкМ достоверно снижал скорость ADP-стимулированного дыхания митохондрий печени и, напротив, увеличивал скорость дыхания органелл в состояниях 2 и 4 вне зависимости от используемого субстрата дыхания. Такое действие конъюгата сопровождалось снижением параметра дыхательного контроля и коэффициента ADP/O. Наблюдаемое дозозависимое увеличение скорости дыхания в состоянии 2 и 4 указывает на возможное разобщающее влияние конъюгата. Этот эффект может быть связан с повышенной проницаемостью митохондриальной мембраны для H+, индуцируемой этим соединением. С другой стороны, ингибитор F1F0-ATPазы митохондрий олигомицин значительно снижал способность конъюгата увеличивать потребление кислорода в состоянии 4. Это может указывать на способность конъюгата нарушать процесс фосфорилирования ADP путем снижения активности комплексов дыхательной цепи и/или обращения активности ATP-синтазы.

Кроме того, установлено, что действие конъюгата маслиновой кислоты на митохондрии, в отличие от исходного соединения, сопровождалось дозозависимым снижением мембранного потенциала органелл. При этом указанные эффекты конъюгата также способствовали дозозависимому увеличению продукции перекиси водорода митохондриями, что было более выражено в случае энергизации органелл глутаматом и малатом.

*Исследование выполнено за счет гранта РНФ № 23-23-00098.*

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕТОВ МАТРИКСА БИОПЛЕНОК *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОБРАЗОВАНИЕМ БИОПЛЕНКИ В МОНО- И СМЕШАННЫХ КУЛЬТУРАХ

***А. В. Миронова*, А. В. Каримова, Н. Д. Закарова, А. Р. Каюмов, Е. Ю. Тризна**
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*amironova2019@mail.ru*

Количественное и качественное соотношение структурных компонентов матрикса биопленок неодинаково для разных видов микроорганизмов. Кроме того, при формировании полимикробных сообществ может изменяться метаболический профиль и, как следствие, состав матрикса может отличаться от мономикробных биопленок тех же видов. В результате, подобные изменения могут приводить к увеличению чувствительности микроорганизмов к определенным неблагоприятным факторам, или же, напротив, к возникновению повышенной устойчивости по отношению к ним.

В работе было показано, что количество внеклеточного матрикса в смешанных сообществах *Staphylococcus aureus – Klebsiella pneumoniae* достоверно не отличается, однако биохимический состав в двувидовых биопленках изменяется, по сравнению с мономикробными сообществами тех же видов. В смешанном сообществе происходит увеличение количества α- и β- полисахаридов в составе матрикса биопленки, что приводит к перестройке её структуры и перемене проницаемости матрикса и, как следствие, изменению чувствительности микроорганизмов к антимикробной терапии.

Посредством полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией проводилась оценка экспрессии генов icaA и icaR, ассоциированных с синтезом полисахаридного межклеточного адгезина (PIA), который является доминирующим компонентом матрикса в биопленках *S. aureus* и экспрессию гена pgaA, который отвечает за синтез экзополисахаридов капсулы *K. pneumoniae*.

Было отмечено, что уровень экспрессии генов icaA и icaR понижается в полимикробных биопленках *S. aureus – K. pneumoniae* по сравнению с монокультурой *S. aureus*. Экспрессия гена pgaA достоверно не отличалась как в мономикробных биопленках *K. pneumoniae*, так и в смешанном сообществе. При этом относительная экспрессия гена pgaA, была выше экспрессии генов icaA и icaR в 10 000 раз, что свидетельствует о том, что синтез полисахаридов обеспечивается за счет клеток *K. pneumoniae*, в то время как в клетках стафилококка метаболизм полисахаридов, входящих в состав биопленки подавлен.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (№ МК-3052.2021.1.4).*

# ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ - ЭНДОФИТОВ КОРНЕЙ ВЕРЕСКОВЫХ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ ФОСФОРА РАСТЕНИЙ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ

***В. С. Михеев*, *И. В. Стручкова*, *Е. В. Березина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*m89625107456@gmail.com*

За последние годы накоплена значительная информация о положительных эффектах колонизации микроскопическими эндофитными грибами вересковых растений, однако механизмы воздействия грибов на вересковые растения изучены слабо. Основными микромицетами-колонизаторами корней вересковых являются грибы эрикоидной микоризы (например *Oidiodendron maius*) и темные септированные эндофиты (например *Phialocephala fortinii*).

Целью данного исследования являлась оценка способности изолятов *P. fortinii* и *O. maius* гидролизовать органические фосфаты почвы, изменять морфометрические показатели растений и способствовать накоплению фосфора клюквой крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon*).

Способность грибов гидролизовать органические фосфаты почвы доказывали, определяя еженедельно фитазную активность в культуральной жидкости в течение 28 суток роста при pH реакционной среды 4,5 по увеличению концентрации продукта – фосфат-ионов. Концентрацию фосфат-ионов определяли спектрофотометрически по методу Грайнера.

В эксперименте по сокультивированию грибы подселяли к микроклонально размноженным *in vitro* растениям возрастом 2 месяца, высаженным в грунт. Растения культивировали в течение 6 месяцев. По истечении срока сокультивирования измеряли морфометрические показатели, и содержание фосфора в растениях по методу Грайнера после «мокрого» озоления по Чернавиной.

Максимальная активность фитаз наблюдалась у *O. maius* на 14 сутки роста, у *P. fortinii* – на 21 сутки и составляла 7,4 U и 6,91 U соответственно.

По сравнению с контролем, спустя 6 месяцев сокультивирования с *P. fortinii* у растений: 1) возрастала разветвленность (на 41%) и длина (на 17%) корневой системы; 2) содержание фосфора увеличивалось (в корнях - на 24%, в листьях - на 50%). При сокультивировании с грибом *O. maius* инфицирование корней наблюдалось в течение первых двух месяцев сокультивирования, после чего пропадало. Таким образом шестимесячное сокультивирование не повлияло на изменение морфологии и содержание фосфора в тканях растения.

Наличие фитазной активности у *P. fortinii* и *O. maius* указывает на способность высвобождать фосфор из органических компонентов почвы. Возрастание разветвленности и длины корней указывает на способность *P. fortinii* изменять архитектуру корневой системы на более эффективную для поступления фосфора. Увеличение содержания фосфора при сокультивировании с *P. fortinii* доказывает способность гриба усиливать усвоение фосфора почвы растениями.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 22-74-00107).*

# ВЛИЯНИЕ МАТЕРИАЛА-НОСИТЕЛЯ НА ПЛАНКТОННОЕ И ПРИКРЕПЛЕННОЕ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ПРИ ДВУХСТАДИЙНОМ МЕЗОФИЛЬНО-ТЕРМОФИЛЬНОМ АНАЭРОБНОМ СБРАЖИВАНИИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

***Э. Р. Михеева*[1], *С. В. Шехурдина*[2], *И. В. Катраева*[1], *Е. А. Журавлева*[2], *А. А. Лайкова*[2], *Ю. В. Литти*[2]**

[1] Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*sh.sweeta@yandex.ru*

[2]ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33/2

Молочная промышленность в России динамично развивается. Одним из основных отходов производства является молочная сыворотка, которая характеризуется высоким содержанием органических веществ и широким диапазоном pH, что усложняет процесс ее переработки. Анаэробное двухстадийное сбраживание является перспективной технологией переработки для подобных субстратов за счет разделения кислотогенной (низкий pH) и метаногенной (нейтральный pH) стадий и возможности получения H2 и CH4, смешение которых дает высокоэнергетическую смесь - биогитан. Внесение разных материалов-носителей в реактор способствует биопленкообразованию, а использование электропроводящих и некоторых инертных материалов стимулирует прямой межвидовой перенос электронов (DIET), что улучшает стабильность и эффективность метаногенеза.

Целью работы было определение влияния полиуретановой пены, угольного войлока, фарфора и смеси фарфора и угольного войлока на состав микробного сообщества в планктонной и прикрепленной формах при двухстадийном анаэробном сбраживании (АС) молочной сыворотки. Содержание H2 в биогазе в кислотогенном реакторе с полиуретановой пеной в качестве материала носителя (RH) составило 26%. Самое высокое содержание CH4 в биогазе было отмечено в метаногенных реакторах с угольным войлоком (R2) - 64%, и смесью фарфора и угольного войлока (R4) - 72,3%, а в реакторе с фарфором в качестве материала носителя (R3) происходило закисление и метан не образовывалсяОснову бактериального сообщества планктонных и прикрепленных форм RH составляли представители H2-продуцирующего рода *Thermoanaerobacterium*, а также родов *Streptococcus* и *Lactobacillus*, класса Veillonellales-Selenomonadales, способных за счет синергетического взаимодействия повышать выход H2.

Основу архейного сообщества для планктонных и прикрепленных форм в R1-R4 составляли гидрогенотрофные метаногены рода *Methanothermobacter*. Планктонное микробное сообщество R1-R4 было представлено кислотообразующими бродильными микроорганизмами родов *Streptococcus, Thermoanaerobacterium, Pseudomonas* и *Veillonellales-Selenomonadales*, присутствовали синтрофные ацетат-окисляющие бактерии рода *Proteiniphilum*. Иммобилизованное микробное сообщество реакторов (не считая R3) было представлено в основном синтрофными группами класса Aminicenantales, семейства Spirochaetaceae, родов *Anaerolinea, Pelotomaculum, Coprothermobacter* и группы Cloacimonadaceae W5. Для R3 не наблюдалось активного развития синтрофного сообщества, в основном преобладали бродильные и H2-продуцирующие микроорганизмы. В реакторах, содержащих угольный войлок (R2 и R4), синтрофное сообщество было более разнообразным, чем в R1 с пенополиуретаном в качестве носителя, что коррелирует с более высоким содержанием метана в биогазе.

*Работа поддержана грантом РНФ № 21-79-10153.*

# ПРОВЕРКА, АНАЛИЗ И УЛУЧШЕНИЕ МОДЕЛИ НЕЙРОННОЙ СЕТИ АРХИТЕКТУРЫ U-NET, ПРИМЕНЯЮЩЕЙСЯ ДЛЯ СЕГМЕНТАЦИИ УЗИ ИЗОБРАЖЕНИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

***Е. А. Мищенко*, *И. Ю. Демин***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*jane14122000@yandex.ru*

Машинное обучение за последние несколько лет активно внедрилось во многие сферы жизни человека, в том числе в биологию и медицину. Сегментация позволяет выделить границы органов и тканей. Задача сегментации скелетных мышц может представлять значительный интерес для решения различных задач в медицине, таких как проверка или обучение. Ранее нами были получены начальные положительные результаты по обучению сверточной нейронной сети на архитектуре U-net. В данной работе продемонстрировано обучение данной сети на искусственно увеличенном в 4 раза датасете, а также изменение соотношения обучаемой выборки для достижения наилучшего результата.

Для качественного обучения необходима точная настройка параметров. Одни параметры настраиваются лишь многократными обучениями и тестированиями, другие, в частности функции потерь и оптимизатора, можно проверить используя статистические методы. В настоящей работе реализован метод для анализа работы нейронной сети, который заключается в том, чтобы обучить нейронную сеть изменяя и комбинируя различные подходящие функции потерь и оптимизационный алгоритм. Для оценки результатов использовалась метрика Jaccard Index, которая является показателем сходства между двумя наборами данных, в нашем случае оценивалось сходство между истинной и предсказанными масками. Индекс лежит в пределах от 0 до 1 и чем ближе число к 1, тем больше два набора похожи друг на друга. Данный метод позволил нам обосновать применимость используемых показателей, сравнить различные комбинации вышеупомянутых параметров, а также подойти к однозначному выбору оптимизатора и функции потерь.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № FSWR-2023-0031).*

# НОВАЯ ГЕРМИНАЛЬНАЯ МУТАЦИЯ ГЕНА APC У МОЛОДОЙ ПАЦИЕНТКИ, ПРИНАДЛЕЖАЩЕЙ К ТУВИНСКОМУ ЭТНОСУ, С ДИАГНОЗОМ РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

***А. Ю. Молоков*[1, 2], *П. А. Гервас*[1, 2], *Г. А. Кононова*[2]**

[1]Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*amolokov@inbox.ru*

[2]НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, 634050, Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции по уровню заболеваемости во всем мире. Ген APC классифицируется как ген-супрессор опухоли. Гены-супрессоры опухолей предотвращают неконтролируемый рост клеток, который может привести к раку. Герминальные мутации гена APC приводят к семейному аденоматозномуполипозу кишечника (известно более 500 вариантов мутаций). У 75 % пациентов, носителей мутаций гена APC, могут возникать злокачественные опухоли желудка, тела матки, щитовидной железы, молочной железы, центральной нервной системы.

Цель работы – поиск герминальных мутаций генов, ассоциированных с наследственными формами рака молочной железы у пациентов, принадлежащих к тувинскому этносу, с диагнозом рак молочной железы.

Проведено высокопроизводительное секвенирование геномной ДНК 27 пациенток тувинской национальности с диагнозом РМЖ в возрасте до 50 лет с семейной историей. ДНК-библиотеки приготавливали с использованием набора HereditaryCancerSolution™ (SophiaGenetics, Швейцария). Секвенирование (2 х 150 п.н.) проводилось с использованием системы NextSeq500 (Illumina, США).

По результатам биоинформатического анализа данных NGS, у пациентки 40 лет (на момент постановки диагноза), принадлежащей к тувинской этнической группе, с диагнозом РМЖ обнаружена новая герминальная мутация гена APC (g.135823_135823delG, c.7726delG, p.A2576Lfs*17 (GRCh37, hg19)). Была проведена классификация варианта неизвестного значения гена APC с помощью программ, предсказывающих вероятность повреждения функции белка (*insilico*). Программа NetGene2 показала, что данная мутация находится в сайте сплайсинга (сплайс-акцептор на комплементарной цепи), а программы SIFT (damaging), MutationTaster (diseasecausing), CAPICE (CAPICE_Score = 0.992), характеризовали новую мутацию c.7726delG гена APC как возможно повреждающую функцию белка. Так как данная делеция приводит к сдвигу рамки считывания, изменению аминокислотной последовательности и изменению в сайте сплайсинга, то данная мутация может затронуть функции белка APC или вызвать синтез укороченного белка, что в дальнейшем, возможно, приведет к нонсенс-опосредованному распаду. Все вышесказанное создает предпосылки, что новая герминальная мутация c.7726delG гена APC у молодой пациентки (тувинка) с диагнозом рак молочной железы, в дальнейшем может быть мутацией выбора для подтверждения ее патогенности в исследовании *invitro* и с помощью технологии мини-ген.

Нами впервые обнаружена новая герминальная мутация c.7726delG гена APC у молодой пациентки тувинского происхождения с диагнозом рак молочной железы.

# МИКРОСАТЕЛЛИТНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ У РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЖЕЛУДКА

***А. Д. Молчанов*[1], *А. С. Васильева*[2], *М. В. Немцова*[1]**

[1]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2;
*gfyrhjr1@gmail.com*

[2]НМИЦ Онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115522, Москва, Каширское шоссе, 23

Рак желудка (РЖ) является одним из наиболее распространенных типов рака и занимает 3 место в мире по летальности. Согласно полномасштабному молекулярно-генетическому анализу The Cancer Genome Atlas (TCGA) РЖ можно разделить на 4 молекулярных подтипа: подтип, ассоциированный с вирусом Эпштейна-Барр, подтип с хромосомной нестабильностью, геномно-стабильный подтип и подтип с микросателлитной нестабильностью. Микросателлитная нестабильность (MSI) – это состояние, связанное с нарушением репликации микросателлитных повторов (1-4 нуклеотида), при котором в опухоли появляются дополнительные аллели повторов, отсутствующие в нормальных тканях. MSI отражает состояние генетической гипермутабельности опухоли, которое возникает в результате нарушений в генах MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, PMS1, PMS2, формирующих в клетке систему репарации неспаренных оснований (MMR). Наличие MSI является показателем функциональной недостаточности системы MMR, в результате чего частота мутаций резко возрастает. Опухоли с MSI можно разделить на два типа: с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI-H) и низкой микросателлитной нестабильностью (MSI-L). Микросателлитная нестабильность, обнаружена в 4-20% опухолей различного типа и связана с более благополучным течением и с высокой чувствительностью к ингибиторам контрольных точек иммунного ответа.

Цель исследования – провести анализ микросателлитной нестабильности в опухолевых образцах пациентов с РЖ и проанализировать взаимосвязь между MSI и клиническими параметрами пациентов с РЖ.

Исследование проведено на 109 парных образцах опухолевой и не опухолевой ДНК, полученных от пациентов с морфологически подтверждённым диагнозом РЖ. Тестирование проводилось при помощи фрагментного анализа STR- маркеров BAT25, BAT26, NR21, NR24, Mono27. Для оценки взаимосвязи между MSI и клиническими параметрами использовался критерий Фишера, связь считалась значимой при $p<0,05$.

По результатам исследования 109 пациентов, MSI была обнаружена у 10 пациентов, что составляет 10%. Пациентов MSI-H определяли при наличии нестабильности более чем в 4 маркерах, пациентов MSI-L при наличии нестабильности в 2 и менее маркерах. Соотношение пациентов с MSI-H и MSI-L в нашем исследовании оказалось 5 и 5 соответственно, все они были объединены в одну группу MSI+. Мы исследовали связь MSI с клиническими параметрами: возраст (до 50 и после 50 лет), пол, 5-летний статус выживания, классификация по TNM, классификация по Лорен, стадия заболевания, локализация опухоли, наличие перстневидных клеток и удаленных метастазов. Нам не удалось выявить достоверных ассоциаций MSI с перечисленными клиническими характеристиками. Отсутствие достоверных различий может быть связано с недостаточной выборкой исследуемых пациентов.

# ВЛИЯНИЕ РН СРЕДЫ НА ПРОЦЕССЫ АГРЕГАЦИИ БЕЛКОВ С ЗОЛОТЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

***Е. А. Молькова***
Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991 ГСП-1, Москва, ул. Вавилова, 38;
*bronkos627@gmail.com*

Активное внедрение наноматериалов в биохимические и медицинские исследования требует глубоких знаний о процессах, которые происходят с наночастицами при попадании в организм. Сразу же после контакта наночастиц с физиологической жидкостью на поверхности золотых наночастиц начинает образовываться «белковая корона». Особенно важным аспектом является оценка размеров образовавшихся ассоциатов, состояний белка и транспортной способности AuNPs при нахождении таких структур в средах организма. Целью данной работы является оценка взаимодействия трех белков, с конечной концентрацией 1 мг/мл, имеющих разные молекулярные массы, с золотыми наночастицами в широком диапазоне pH. Устойчивые в водном растворе наночастицы золота с размерами 8, 20 и 50 нм были получены методом лазерной абляции.

Были исследованы конъюгаты белков BSA, HEWL, IgG с AuNPs с помощью методов динамического светорассеяния, флуоресценции, спектрофотометрии. В дополнение были получены данные окислительно-восстановительного и дзета потенциалов систем белок-AuNPs. По результатам измерений динамического светорассеяния приготовленных растворов конъюгатов белок-AuNPs наибольшую устойчивость к агломерации в условиях изменения pH среды проявляет раствор BSA с AuNPs (размер наночастиц 20 нм). По спектрам поглощения наблюдали сдвиг плазмонного резонанса AuNPs, конъюгированных с белками. Было установлено, что величина сдвига зависит от природы белка и кислотности среды. Наибольший вклад в окислительно-восстановительный потенциал во всем диапазоне исследуемых значений pH вносили золотые наночастицы.

Данное исследование показывает влияние pH на процессы агрегации комплексов белок-AuNPs и необходимость учитывать эти процессы при биохимических исследованиях.

# ПАТТЕРНЫ ЭКСПРЕССИИ ПРОТЕИНКИНАЗЫ НЕКРОПТОЗА RIPK3 В РАНОЗАЖИВЛЕНИИ МЫШИ И ЧЕЛОВЕКА

***Е. И. Моргун*[1], *И. С. Изюмов*[1], *Е. П. Калабушева*[1], *С. А. Шелег*[2], *Е. А. Воротеляк*[1, 2]**

[1]Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26;
*lady.morgun2016@yandex.ru*

[2]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1

Протеинкиназа RIPK3 является участником некроптоза – типа запрограммированной клеточной гибели (Pasparakis et al., 2015). В последнее время стали появляться данные о неканонических функциях RIPK3, неизученных ранее, например, об участии RIPK3 в развитии фиброза почек и о возможной роли этой протеинкиназы в процессе активации фибробластов (Imamura et al., 2018). В предварительных экспериментах была обнаружена экспрессия RIPK3 в ране мыши и человека. Целью нашей работы было изучить типы клеток, экспрессирующих RIPK3 в грануляционной ткани раневого ложа.

В ходе исследования мышам линии c57bl/6 наносили на спину по 5 циркулярных ран диаметром 8 мм, после чего поверхность ран покрывали пластырем. Животных выводили из эксперимента на 10 сутки. Далее часть ран, а также образцы неповрежденной кожи мыши замораживали в парах жидкого азота и резали на криостате. Полученные криосрезы окрашивали антителами против RIPK3 и Vimentin (Vim), после чего препараты анализировали на флуоресцентном микроскопе и проводили статистическую обработку. Из части ран выделяли клетки грануляционной ткани с помощью смеси коллагена I и IV, после чего культивировали в среде DMEM с 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 1% глутамина и 1% пенициллин-стрептомицина. После достижения конфлюэнтности из клеток выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию и ПЦР в реальном времени (РВ) на Ripk3, Acta2, Fap и Fn1. Иммуногистохимическое исследование показало присутствие следующих субпопуляций клеток в раневом ложе и здоровой коже: RIPK3+Vim+, RIPK3-Vim+, RIPK3+Vim-, RIPK3-Vim-. Статистический анализ показал, что RIPK3+Vim+ клеток в раневом ложе было достоверно больше, чем в здоровой коже, а число RIPK3-Vim+ клеток в здоровой коже достоверно превышало количество клеток такого типа в ране. ПЦР РВ показал экспрессию Ripk3, а также маркеров фибробластов Acta2, Fap и Fn1 в клетках, выделенных из раневого ложа.

На основании полученных результатов мы сделали предположение о том, что RIPK3 может экспрессироваться фибробластами раневого ложа. Дальнейшие исследования нашей группы предполагают изучения возможной роли RIPK3 в ранозаживлении, в том числе возможность участия этой протеинкиназы в активации фибробластов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 21-74-30015).*

# ПОИСК НОВЫХ ПОДХОДОВ К УВЕЛИЧЕНИЮ ЗДОРОВОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ

***И. С. Моргунов*, *А. А. Москалёв***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*ivanmorgunovpersonal@gmail.com*

На сегодняшний день существует более 100 интервенций, направленных на увеличение продолжительности жизни мышей. Большинство из них основано на результатах, полученных на сравнениях с короткоживущими контролями. Если ориентироваться исключительно на максимальное увеличение продолжительности жизни, то наиболее эффективным методом является ограничение калорий (CR), которое продлило жизнь мышам до 1520 дней. Ни один из методов воздействия, включая удлинение теломер (TERT), ингибиторы mTOR, сиртуины, NAD и Klotho, не демонстрировал результатов, превосходящих CR. В связи с этим необходимы новые подходы к увеличению продолжительности жизни.

Такими подходами могут быть поиск и валидация новых мишеней, ассоциированных со старением, либо комбинирование уже существующих, воздействующих на наиболее важные звенья патогенетической сети, связанной с регуляцией старения и возраст-зависимых заболеваний. Подходы к поиску новых мишеней должны быть всесторонними и охватывать различные органы и ткани в различные периоды жизни, чтобы определить наиболее значимые мишени, которые могут существенно повлиять на продолжительность жизни. С другой стороны, необходимо искать синергетические эффекты в уже известных интервенциях. Организм, как правило, активирует компенсаторные механизмы, стремясь к поддержанию гомеостаза, даже в условиях старения. Однако для преодоления процесса старения необходимо одновременно воздействовать на несколько механизмов в организме. Подход, основанный на комбинировании различных аспектов старения, таких как митохондриальная дисфункция, нарушение протеостаза, укорочение теломер, жесткость внеклеточного матрикса и другие, может оказаться наиболее эффективным в борьбе со старением.

В докладе обсуждаются стратегии поиска новых мишеней или синергетических эффектов существующих интервенций для увеличения здоровой продолжительности жизни.

# ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА PTPN5, КОДИРУЮЩЕГО СТРИАТУМСПЕЦИФИЧНУЮ ПРОТЕИНТИРОЗИНФОСФАТАЗУ STEP, НА СЕРОТОНИНОВУЮ СИСТЕМУ МОЗГА У МЫШЕЙ.

***В. С. Москалюк*, А. Б. Арефьева, Д. В. Базовкина, А. В. Куликов, Е. А. Куликова**
ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск,
просп. Академика Лаврентьева, 10; *v.moskaliuk@alumni.nsu.ru*

Стриатумспецифичная протеинтирозинфосфатаза STEP, кодируемая геном Ptpn5, участвует в ключевых сигнальных каскадах нервной клетки, регулирующих процессы нейропластичности. Известна роль данной фосфатазы в механизмах нейродегенеративных и психических заболеваний. Более того, ингибитор белка STEP оказывал анксиолитическое, антиагрессивное и антидепрессантное действия, а также корректировал поведение животных в моделях нейродегенеративных заболеваний и оказывал влияние на серотониновую систему мозга. Известно, что данная система также участвует в регуляции психопатологий. Однако, связь непосредственно STEP с серотониновой системой ранее не изучалась. Целью данной работы было исследовать влияние нокаута гена Ptpn5, кодирующего фосфатазу STEP, на серотониновую систему мозга у мышей.

В работе использовались половозрелые самцы мышей линии C57BL/6 и животные с нокаутом гена Ptpn5 (STEP KO, Ptpn5-/-). Линия мышей STEP KO была получена в ИЦиГ СО РАН с помощью метода редактирования генома CRISPR/CAS9 на основе инбредной линии C57BL/6. В гене Ptpn5 исходной линии C57BL/6 была создана делеция 346 п.о., которая привела к разрушению субстрат-связывающего домена в продукте гена и, как следствие, к нарушению связывания белка STEP с его субстратами. Методом ОТ-ПЦР в реальном времени было исследовано влияние нокаута на экспрессию генов основного фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы 2 (ТПГ-2) и белка обратного захвата серотонина в среднем мозге, фермента разрушения серотонина –моноаминоксидазы А и рецепторов серотонина 5-$HT_1$A, 5-$HT_2$A, 5-$HT_7$ в среднем мозге, гиппокампе, стриатуме и фронтальной коре, а также на уровень данных белков Вестерн блот анализом. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии был измерен уровень серотонина и его метаболита, а также активность ТПГ-2.

Экспрессия гена Htr1A, кодирующего серотониновый рецептор 5-$HT_{спр}$A, была снижена у мышей с нокаутом гена Ptpn5 в среднем мозге, а гена Htr7, кодирующего серотониновый рецептор 5-$HT_7$ – в гиппокампе. При этом уровень белка основного фермента синтеза серотонина ТПГ-2 был повышен у мышей линии Ptpn5-/- в гиппокампе, а уровень самого серотонина – в стриатуме. На другие исследованные нами показатели нокаут гена Ptpn5 не повлиял.

Таким образом, нарушение функций фосфатазы STEP путем разрушения ее субстрат-связывающего домена повлияло на многие составляющие серотониновой системы. Впервые было показано взаимодействие между фосфатазой STEP и серотониновой системой, что открывает новые перспективные направления для изучения молекулярных механизмов поведения и развития нейродегенеративных заболеваний.

*Исследование выполнено при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0010.*

# СОДЕРЖАНИЕ Т-РЕГУЛЯТОРОВ И АУТОАНТИТЕЛ К DNA В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ

***Е. В. Мохонова*, *В. А. Лапин, Д. А. Мелентьев, Н. В. Неумоина, К. М. Перфилова***
Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71; *ekaterinamohonova@yandex.ru*

Взаимодействие *Helicobacter pylori* и макроорганизма при развитии хронического гастрита сопровождается значительными нарушениями в иммунной системе, что потенциально может спровоцировать развитие разнообразных аутоиммунных реакций. Результатом может стать избыточное количество аутоспецифических клеток и антител и сниженное число Т-регуляторных клеток (T-reg).

Для определения возможной роли *H. pylori* в развитии аутоиммунных сдвигов оценили относительное содержание T-reg (CD4+FoxP3+ клеток), а также уровень аутоантител против двунитевой и однонитевой ДНК (ss-DNA и ds-DNA) – маркеров системной красной волчанки (СКВ) в крови больных хроническим гастритом. Обнаружено, что у пациентов положительных по *H. pylori*, медиана содержания клеток фенотипа CD4+FoxP3+ составила 2,37(1,52–4,45)%, а у пациентов с отсутствием хеликобактерной инфекции этот показатель составил 2,31(1,92-5,58)%. Статистически значимых отличий между группами не наблюдалось (p=0,6852). В литературе встречаются сообщения об увеличении количества T-reg (CD4+CD25+hi) в периферической крови больных *H. pylori*-инфекцией (CagA (+) штаммами) по сравнению со здоровыми лицами. Однако, в крови больных *H. pylori*-инфекцией (CagA (-) штаммами) количество T-reg (CD4+CD25+hi) было в пределах нормы. В нашем случае у больных хеликобактерной инфекцией, характеристика штамма не изучалась. Можно предположить, что среди наших пациентов в большинстве случаев были лица, инфицированные CagA (-) штаммами *H. pylori*. В исследовании Hussain K. с соавторами показано, что содержание FoxP3+ клеток среди CD4+CD25+hi периферической крови не различались между инфицированными и неинфицированными *H. pylori* донорами, что соответствует полученным нами данными об отсутствии различий между инфицированными и неинфицированными *H. pylori* больными хроническим гастритом.

С помощью ИФА мы оценили возможность *H. pylori* влиять на содержание в плазме крови аутоантител против ss-DNA и ds-DNA (маркеры СКВ) в крови больных хроническим гастритом. Уровень аутоантител против ss-DNA и ds-DNA был в пределах нормы (20Ед/мл) как у положительных (10,26(8,13-15,07) и 6,41(5,44-7,28)) Ед/мл, так и отрицательных по *H. pylori* больных (11,22(8,75-16,22) и 6,99(5,94-9,29)) Ед/мл. Согласно литературным данным, *H. pylori* существенно реже встречается у больных СКВ темнокожих женщин в сравнении со здоровыми. У пациентов других рас и пола связи обнаружено не было. Можно предположить, что *H. pylori* оказывает протективную роль в развитии аутоиммунных заболеваний.

# АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ГИДРАВЛИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

***М. А. Мудрилов*, Я. А. Ветрова, В. А. Воденеев**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*mtengri@yandex.ru*

В настоящее время не вызывает сомнений существование у растений сложного комплекса сигнальных систем, которые можно условно разделить на химические, электрические и гидравлические. Среди них особый интерес вызывает вариабельный потенциал (ВП), представляющий собой комплексный сигнал, в виде электрической реакции в ответ на прохождение по сосудам потока жидкости с «раневым веществом», и чьи параметры проявляют определенную зависимость от типа раздражителя. Однако, неизвестно, может ли поток жидкости выполнять роль гидравлического сигнала (ГС), передающего информацию о раздражителе, или же служит исключительно для оперативного переноса химического компонента ВП. Целью работы является определение особенностей ГС и соотнесение его характеристик с параметрами ВП в проростках пшеницы, индуцированного различными раздражителями.

Объектом исследования выступали 2–3-х недельные растения пшеницы (*Triticum aestivum*). Раздражение наносилось на кончик второго взрослого листа, путем ожога, постепенного нагрева в кювете с водой и механического повреждения путем раздавливания. Электрическую активность регистрировали внеклеточно, электроды размещались вдоль исследуемого листа. ГС регистрировали путем измерения толщины листа пшеницы с помощью системы, состоящей из оптических микрометров OL1 (SICK, Германия), анализаторного блока AOD1 (SICK, Германия) и аналогово-цифровых преобразователей LTR12 в крейте LTR-EU-2-5 (L-Card, Россия).

Раздражение индуцировало возникновение и распространение ВП и ГС по листу пшеницы. Были показаны различия как в параметрах ВП, так и ГС, в зависимости от типа раздражителя. Во всех случаях наблюдалось увеличение толщины листа, соответствующее по времени прохождению ВП по данному участку листа, наименьшее при механическом повреждении. Аналогичная ситуация наблюдалась и в случае ВП. В случае ожога и механического повреждения может наблюдаться кратковременное снижение толщины листа, предшествующие фазе утолщения. Однако, в случае нагрева фаза уменьшения толщины является продолжительной, начинающейся через некоторое время после начала нагрева, задолго до генерации ВП. Таким образом, можно заключить, что параметры ВП и ГС проявляют зависимость от типа раздражителя, а ГС может одновременно выступать как индуктором ВП, так и сигналом, передающим информацию о раздражителе.

*Исследование выполнено за счет гранта РНФ (проект № 22-14-00388).*

# ПРИМЕНЕНИЕ СЕРТОЛИ-ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИСКУСТВЕННЫХ СПЕРМАТОГЕННЫХ СИСТЕМ

***В. В. Мун***

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26

Основными клетками, обеспечивающими протекание сперматогенеза *in vivo* у млекопитающих, являются клетки Сертоли (КС). Они расположенны в сперматогенном эпителии извитых семенных канальцев яичка и обеспечивают развитие и защиту половых клеток. Столь важная роль делает КС перспективным объектом для разработок систем *in vitro* сперматогенеза или методик лечения мужского бесплодия, однако пролиферация данного типа клеток в культуре очень затруднена.

Недавно, нашей лабораторией, в области сети семенника, была открыта новая популяция клеток, которую мы назвали Сертоли-подобные клетки (СПК). Они обладают схожим с КС профилем экспрессии, но активной пролиферацией в культуре. Кроме того, в условиях 3D-культивирования с неонатальными КС, СПК способны поддерживать развитие половых клеток до начальных стадий мейоза. Таким образом, СПК могут стать альтернативой неонатальным КС в технологии *in vitro* сперматогенеза, но требуется более точная оценка способности СПК поддерживать сперматогенез. Целью текущей работы является разработка модели для оценки функциональной активности культуры СПК в условиях *in vivo* семенника.

При помощи катионного детергента хлорида бензалкония (ХБ) мы удаляли КС из извитых семенных канальцев, после чего трансплантировали донорские СПК или неонатальные КС в обработанный семенник. Серию разведений ХБ инъецировали в извитые семенные канальцы. Результат оценивали на 4 сутки после операции. Анализ, проведенный посредством гематоксилин-эозиновой окраски и иммунофлуоресцентной окраски на маркер КС и СПК – Sox9, показал, что эффект от инъекции заключается в снижении сперматогенного эпителия и гибели КС. 0.1% концентрация детергента вызывает гибель КС в трети извитых семенных канальцев и была выбрана рабочей. Далее, на 4 сутки после инъекции ХБ, в качестве контроля трансплантировали суспензию неонатальных КС, анализ проводили на 4, 14 и 28 сутки. В результате было установлено, что неонатальные КС остаются жизнеспособными в семенниках реципиента, заполняют свободные от клеток реципиента семенные канальцы и формируют канальце-подобные структуры, поддерживающие половые клетки. Трансплантированные СПК показывают аналогичное поведение и сохраняют экспрессию типичных для КС транскрипционных факторов, таких как Sox9 и Dmrt1. В дальнейшем, для непосредственной оценки способности СПК поддерживать сперматогенез, планируется совместная трансплантация культуры СПК и сперматогониальных стволовых клеток.

Таким образом, мы получили тестовую систему, которая позволяет оценить функциональную активность СПК в условиях, максимально приближенных к нативным, что может помочь в исследовании взаимодействия ниши сперматогониальных стволовых клеток с соматическими клетками и разработке методов лечения мужского бесплодия.

# ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ АГЕНТОВ НА КЛЕТКИ КРОВИ И УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ГЕНОВ В ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СЕЛЕЗЕНКЕ САМЦОВ МЫШЕЙ ЛИНИЙ BTBR $T^{+}ITPR3^{TF}/J$ И C57BL/6

***А. С. Мутовина*[1, 2], *К. А. Айриянц*[2], *Е. В. Межлумян*[1], *В. В. Решетников*[2], *Н. П. Бондарь*[2]**

[1]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*a.mutovina@g.nsu.ru*

[2]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Расстройство аутистического спектра (РАС) является одним из наиболее распространенных нарушений развития нервной системы. Кроме того, заболевание характеризуется разнообразием фенотипических проявлений, а также генетического фона, что затрудняет его идентификацию и диагностику. В настоящее время описаны обширные изменения иммунной функции как у детей, так и у взрослых с РАС, однако вовлеченность иммунной системы в патогенез заболевания всё ещё остается не ясна. Одной из наиболее валидных моделей РАС является линия мышей BTBR $T^{+}Itpr3^{tf}/J$ (BTBR). Она не только демонстрируют нарушения в социальном поведении, но также имеет аналогичные наблюдаемым у больных РАС нарушения в иммунной системе. Тем не менее, иммунный ответ на индуцированное воспаление у этих мышей все еще плохо изучен. Поэтому целью данной работы было оценить различия в иммунной реакции у взрослых самцов мышей BTBR и C57BL/6 на индукцию острого вирусного, бактериального воспаления, а также их комбинации.

Мышам линий BTBR и C57BL/6 внутрибрюшинно вводили либо бактериальный миметик липополисахарид (LPS, 50 мкг/кг), либо вирусный миметик полиинозиновую:полицитидиловую кислоту (Poly I:C, 10 мкг/кг), или их комбинацию. Контроль получал эквивалентные объемы физиологического раствора. Иммунофенотипирование лимфоцитов крови и гематологический анализ проводили через 2 и 16 часов после инъекции, также в эти промежутки времени были оценены уровни экспрессии Fos, Gfap (маркер активации астроцитов) и Aif1(маркер активации микроглии) и генов провоспалительных цитокинов (Il1β, Il6, Tnfα) в гипоталамусе и префронтальной коре, и генов Fos, Il1b, Il6, Tnfa в селезенке.

Мы обнаружили, что у обеих линий мышей наиболее тяжелая воспалительная реакция была вызвана введением полиинозиновой:полицитидиловой кислоты, тогда как комбинированное введение Poly I:C и LPS не усиливало эту реакцию. Тем не менее, мыши BTBR продемонстрировали более выраженный ответ на введение липополисахарида, демонстрируя измененный коэффициент лимфоцитоза из-за увеличения количества $CD4^{+}$ лимфоцитов и высокую экспрессию маркеров активированной микроглии (Aif1) и астроглии (Gfap) в различных областях мозга по сравнению с мышами C57BL6/J. Таким образом, данные результаты позволяют лучше изучить особенности иммунной системы BTBR мышей как на базальном уровне так и динамические изменения иммунореактивности в ответ на бактериальные и вирусные миметики.

*Исследование выполнено при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0016.*

# ОЦЕНКА ТРОФИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕБОКСАРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА ПО СОДЕРЖАНИЮ ХЛОРОФИЛЛА А (2019-2022 ГГ.)

***Д. В. Мушаков*[1, 2], *В. В. Логинов*[3]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*mushakov.dv@yandex.ru*

[2]Нижегородский филиал ВНИРО, 603116, Нижний Новгород, Московское ш., 31

[3]Центр гигиены и эпидемиологии в Нижегородской области, 603001, Нижний Новгород, Нижневолжская наб., 2

Изучение гидробиологического режима самого молодого в Волжском каскаде Чебоксарского водохранилища проводится с момента его создания в декабре 1980 г. Экологический мониторинг водных объектов невозможно представить без оценки их автотрофного звена и определения трофического статуса. Для характеристики трофности водоема и получения информации о состоянии фитопланктона часто используют фотосинтетические пигменты, а именно хлорофилл *a* (Хл *a*), который является основным пигментом зеленых растений, характеризует продуктивность водорослей и служит показателем их биомассы.

С 2019 по 2022 гг. был произведен отбор проб воды на анализ содержания Хл *a* в различных районах водохранилища. Сбор материала осуществлялся в составе экспедиций «НижегородНИРО» на 28 станциях: верхнеречной участок (уч.) (плотина Нижегородской ГЭС – устье р. Ока) – 2 станции; среднеречной уч. (устье р. Ока – устье р. Сура) – 13 станций; озерный уч. (устье р. Сура – н.п. Ильинка) – 6 станций; приплотинный уч. (н.п. Ильинка – плотина Чебоксарской ГЭС) – 5 станций; Окский отрог (устье р. Ока – н.п. Желнино) – 4 станции. Всего отобрано и проанализировано – 221 проба.

Содержание фотосинтетических пигментов фитопланктона определяли стандартным спектрофотометрическим методом. Оценку трофического статуса Чебоксарского водохранилища проводили по средним концентрациям Хл *a* на каждом участке, придерживаясь шкалы С.П. Китаева.

За период исследований концентрация Хл *a* фитопланктона изменялась от 2,95 до 167,39 мг/м$^3$. На верхнеречном уч. средняя концентрация Хл а составила 5,91±0,57 мг/м$^3$, трофический статус – α-мезотрофный. По содержанию хлорофилла а среднеречной уч. характеризуется наибольшей продуктивностью – 33,02±2,86 мг/м$^3$, трофность данного участка – β-эвтрофная. На озерном и приплотинном участках отмечено снижение концентрации Хл а почти в 2 раза 17,04±5,21 и 14,35±3,47 мг/м$^3$ соответственно, трофический статус обоих участков – α-эвтрофный. Средняя концентрация Хл *a* в Чебоксарском водохранилище составила – 17,58±5,67 мг/м$^3$, трофический статус – α-эвтрофный.

Высокое содержание Хл а связано с высокой трофностью Окского отрога Чебоксарского водохранилища – 79,54±15,96 мг/м$^3$. Однако, несмотря на поступление высокоэвтрофных Окских вод, концентрация Хл а после впадения р. Оки вниз по течению постепенно снижалась, что определяется особенностями гидроэкологических условий водохранилища.

Таким образом, современный трофический статус водохранилища эвтрофный, в зоне воздействия стока Горьковского водохранилища (до устья р. Оки) – мезотрофный. Полученные данные можно использовать для целей экологического мониторинга.

# ФЛОРА И РАСТИТЕЛЬНОСТЬ БЕЛОЙ ГОРЫ И ЕЕ ОКРЕСТНОСТЕЙ

***П. И. Немтина***
Пермский государственный университет, 614068, Пермь, ул. Букирева, 15;
*nepolinka00@gmail.com*

Для выявления редких и охраняемых растений необходимо знать видовой состав флоры изучаемой территории. Целью исследовательской работы является изучение флоры и растительности Белой горы и его окрестностей.

Для достижения цели нами были поставлены следующие задачи: охарактеризовать растительность Белой горы; описать и проанализировать флору Белой горы; выявить реликты, эндемики Урала, редкие и охраняемые виды растений; проанализировать жизненные формы растений по классификации К. Раункиера и И. Г. Серебрякова; выделить экологические группы растений по отношению к влаге и свету; сформировать группы ресурсных растений.

Растительность Белой горы и ее окрестностей разнообразна и включает в свой состав редкие и охраняемые виды растений для Пермского края. На территории скального массива преобладает луговая растительность. На втором месте скальная. Лесная развита незначительно и располагается на некоторых участках воль дороги. Меньшая часть приходится на сорно-рудеральную растительность, так как воздействие человека на этот ландшафт ничтожное. Флора Белой горы насчитывает не менее 64 вида, относящихся к 59 родам и 29 семействам. Она многочисленна и разнообразна. На территории известнякового обнажения Белая гора обнаружены 3 эндемика Урала, 7 реликтов и один охраняемый вид – дремлик темно-красный. Среди жизненных форм растений по К. Раункиеру в проведенных исследованиях преобладают гемикриптофиты, которые указывают на принадлежность флоры Белой горы к умеренному климату. По классификации И. Г. Серебрякова доминируют ползучие поликарпики (15,9%) и монокарпики длительной вегетации (12,7%). Представители этих жизненных форм встречаются как на скалах, так и в окружающем лесу. Это связано с тем, что почвенный слой на Белой горе развит плохо, его толщина составляет всего несколько сантиметров, а под ним находится горная порода, которая препятствует развитию подземных частей растений. Во флоре среди групп растений по отношению к влаге доминируют мезофиты и ксеромезофиты. Это связано с тем, что почва Белой горы в основном умеренно-увлажненная, а на верхних участках – засушливая.

# ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКИ ДЕЙСТВУЮЩЕГО ИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ ИНДУЦИРУЕМЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ СИГНАЛОМ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОТВЕТОВ У РАСТЕНИЙ ТАБАКА

***Ю. А. Немцова, М. Н. Агеева, В. А. Воденеев, М. А. Гринберг***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*julnemtcova@yandex.ru*

Значительную роль в ответе на стрессор у растений играют электрические сигналы (ЭС). Распространяясь по растению, они запускают комплекс функциональных ответов, обуславливающих развитие адаптации. Известно, что ЭС и вызываемые ими функциональные ответы претерпевают изменения в условиях повышенной радиационной нагрузки. Однако до сих пор остается не исследованным вопрос о механизмах таких изменений.

Целью работы являлся анализ влияния хронического облучения на ЭС растений, связанные с ними сдвиги pH и ответы фотосинтеза (ФС). Эксперименты проводились на растениях табака *Nicotiana tabacum*, экспрессирующих pH-чувствительный белок Pt-GFP. В работе использовался закрытый источник 90Sr-90Y, являющийся чистым β-излучателем. Активность источника составляла 0,1 МБк, мощность дозы на уровне листьев достигала примерно 31,3 мкГр/час. Контрольные растения выращивались в аналогичных условиях в отсутствии источника ИИ. В качестве морфометрических параметров определялась площадь листьев, сырой и сухой вес. ЭС индуцировался нагревом кончика листа. Регистрация ЭС производилась при помощи макроэлектродной техники. Детекция изменений pH на уровне целого растения осуществлялась с использованием установки флуоресцентного имиджинга. Для регистрации параметров ФС растений табака использовался PAM-флуориметр. Устьичная проводимость оценивалась при помощи инфракрасного газоанализатора.

Результаты экспериментов демонстрируют увеличение морфометрических показателей, уровня устьичной проводимости и повышение активности ФС у облученных растений. У контрольных и облучённых растений локальное раздражение вызывает распространение стрессового ЭС. В нашем эксперименте ИИ не вызывало изменений в амплитуде индуцированных локальным нагревом ЭС. При прохождении по листу ЭС вызывает временное закисление цитоплазмы клеток, снижение уровня устьичной проводимости и интенсивности ФС. Установлено, что ИИ значительно усиливает вызванные ЭС изменения устьичной проводимости. У облучённых растений обнаружено усиление ответов ФС, вызываемых ЭС, а также наблюдается нарушение корреляции между амплитудами ЭС и вызываемыми ими ответами ФС. Также у облученных растений имели место более выраженные сдвиги pH и наблюдалось нарушение корреляции между амплитудами ЭС и pH. В экспериментах наблюдалось соответствие во времени и динамике изменений pH и активности ФС. Временные характеристики изменений устьичной проводимости идентичны фотосинтетическим ответам, вызванным распространением ЭС.

Результаты экспериментов позволяют предположить о существовании двух основных путей модификации вызываемых ЭС фотосинтетических ответов у растений табака, выращенных в условиях хронического облучения. Первый путь связан с влиянием ИИ на системы поддержания pH клетки, второй – на систему регуляции устьичной проводимости.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки (проект № 075-15-2021-1068).*

# ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА ПРИ ПОМОЩИ НАПРАВЛЕННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ МИКРОГЛИИ МЕТОДОМ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

***М. В. Нестерчук*[2], *В. С. Брезгина*[1, 2], *Т. О. Абакумова*[1], *Ю. В. Котелевцев*[2], *А. С. Микаелян*[3], *А. В. Дейкин*[4]**

[1]Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1/7; *Vera.Brezgina@skoltech.ru*
[2]Центр нейробиологии и реабилитации мозга им. В.Л. Зельмана. Сколковский институт наук и технологий, 121205, Москва, Большой бул., 30/1
[3]Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26
[4]Белгородский государственный университет, 308015, Белгород, ул. Победы, 85

Микроглиальные клетки являются резидентными макрофагами ЦНС. Они реализуют реакции врожденного иммунитета и способны реагировать на различные внешние воздействия и активироваться в провоспалительный (М1) и противовоспалительный (М2) фенотипы. М1-активированная микроглия выделяет провоспалительные цитокины, увеличивая воспаление; М2 (противовоспалительная) способствует восстановлению тканей и поддерживает гомеостаз нейронов. В развитии нейродегенеративных заболеваний, одним из которых является боковой амиотрофический склероз (БАС), происходит чрезмерная активация провоспалительной микроглии. Предлагается способствовать М2 поляризации при помощи генетической модификации или медикаментозного лечения. Нами использована описанная ранее модель БАС на основе измененной экспрессии трансгенного РНК-связывающего FUS белка, который утратил нормальную ядерную локализацию и образует цитоплазматические включения, приводящие к активации М1 микроглии и последующей нейродегенерации. Для направленной поляризации микроглии в работе использовались малые интерферирующие РНК (миРНК), способствующие кратковременной специфической деградации комплементарных матричных РНК (мРНК). Целью данной работы является нокдаун (подавление экспрессии кандидатных генов мишеней) с помощью миРНК и изучение их влияния на поляризацию микроглии в развитии БАС.

В данной работе использовались миРНК, нацеленные на следующие гены-мишени: IRF5, Tlr4, Hif-1a, Has-2, Egr-2 и IRF-3. Для изучения роли поляризации микроглии была использована первичная микроглиальная мышиная культура, которую сначала трансфецировали исследуемой миРНК (10 нМ) и затем поляризовали в М1 фенотип с помощью липополисахарида (100 нг/мл) и в М2 фенотип с помощью интерлейкина-4 (20 нг/мл) в течение 24 и 48 часов. Далее анализировали экспрессию генов с помощью ПЦР в реальном времени.

В качестве маркеров М1 поляризации использовались TNF-a и IL-6, маркерами М2 поляризации - Arg1 и Chill3. Нокдаун IRF5 и Tlr4 в первичной культуре продемонстрировал сильный и продолжительный эффект на маркеры поляризации М1 и М2 по сравнению с другими генами мишенями. В работе продемонстрировано, что нокдаун IRF5 подавляет экспрессию TNF-a в три раза и не оказывает влияния на экспрессию IL-6. При этом экспрессия Arg1 не изменяется значительно, в то время как экспрессия Chill3 увеличивается в два раза. Также показано, что подавление экспрессии Tlr4 снижает экспрессию провоспалительных цитокинов Tnf-a и IL-6 в два раза и повышает экспрессию Arg1 после нокдауна в течение 24 часов, но не 48 часов.

Таким образом, в данной работе была изучена способность миРНК изменять фенотипы микроглии путем нокдауна генов, ответственных за ее поляризацию. Результаты демонстрируют, что подавление экспрессии IRF5 и Tlr4 ослабляет М1 фенотип микроглии.

*Работа выполнена при поддержке РНФ 22-75-10151.*

# СОДЕРЖАНИЕ ПРЕДСЕРДНОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА У ПОТОМСТВА КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА

***Д. А. Нефедова*[1], *М. Л. Бугрова*[2], *С. Н. Завьялов*[3], *Г. В. Брюхин*[3]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *nifka22@mail.ru*

[2] Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

[3]Южно-Уральский государственный медицинский университет, 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64

Семейство натрийуретических пептидов включает класс гормонов, участвующих в поддержании водно-солевого равновесия. Одним из компонентов этой системы является предсердный натрийуретический пептид (ПНП). Синтез и хранение его осуществляются в гранулах секреторных кардиомиоцитов предсердий. ПНП играет огромную роль в регулировании гемодинамики. Он оказывает гипотензивный эффект, снижая артериальное давление за счет диуретического и натрийуретического действия, является антагонистом ренин-ангиотензиновой системы, подавляет пролиферацию сердечных фибробластов и т.д.

Актуальность нашей работы заключается в том, что несмотря на существование большого количества исследований ПНП при различных патологиях, практически отсутствуют работы, изучающие гормон у плода при наличии хронических заболеваний в материнском организме. Целью нашего исследования является количественный анализ образования и выделения предсердного натрийуретического пептида у половозрелого потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом I типа.

Модель сахарного диабета воспроизводили по общепринятой методике с использованием стрептозотоцина. Исследование ПНП проводилось у половозрелых самцов крыс, являющихся потомством самок с экспериментальным сахарным диабетом I типа (опытная группа, n = 5) и потомства интактных самок (контрольная группа, n = 5).

Электронно-микроскопический анализ ткани правого предсердия проводили по стандартной методике. Клеточную локализацию ПНП выявляли на ультратонких срезах с помощью поликлональных антител (Recombinant Anti-Natriuretic peptides A antibody [EPR22089-283] фирма Abcam, USA). Считали гранулы 2-х типов в полях зрения (38х38 мкм): А-тип с хорошо визуализируемой мембраной («зрелые, запасающие»), и гранулы В-типа с растворяющейся мембраной («выделяющие гормон в саркоплазму»).

Было показано: количество гранул А-типа ниже на 25%, В – гранул на 15% и общее количество на 12% по сравнению с контролем. При этом число гранул без метки было на 59% выше контроля. По-видимому, образование и выведение ПНП у потомства крыс с сахарным диабетом I типа уменьшено, по сравнению с потомством здоровых животных. Большее по сравнению с контролем число гранул без метки предположительно могло быть связано с преобладанием накопления других гормонов в гранулах.

# ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ 1L-5-6L МУЛЬТИГЕННОГО СЕМЕЙСТВА 110 ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА *IN VITRO*

***М. В. Нефедьева*, *И. А. Титов***

ФИЦ вирусологии и микробиологии, 601125, пос. Вольгинский Владимирской обл., ул. Академика Бакулова, 1; *masha67111@mail.ru*

Африканская чума свиней (АЧС) - вирусное заболевание с высокой летальностью, поражающее домашних свиней и кабанов. На сегодняшний день АЧС распространилась по Африке, Европе и Азии. Для борьбы со вспышками АЧС срочно требуется разработка безопасных и эффективных вакцин. Конструирование делеционных мутантных штаммов вируса АЧС является одним из наиболее многообещающих подходов к разработке вакцины. Еще одним преимуществом такого подхода является возможность изучения функции генов. Внимание исследователей привлекают мультигенные семейства, так как наблюдаемые в них генетические изменения часто связаны с изменением биологических свойств вируса. Вероятно, отдельные гены вируса кодируют ингибиторы активности каспаз, позволяющие избежать апоптоза и тем самым продлить цикл репликации.

В данной работе изучается активация/регуляция апоптоза *in vitro* в клетках, инфицированных рекомбинантным вирусом АЧС с делецией мультигенного семейства MGF110 1L-5-6L.

Ранее методом гомологичной рекомбинации был получен рекомбинантный вирус АЧС Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110 (генотип II, серогруппа 8) с делецией генов мультигенного семейства MGF110 1L-5-6L. Определена его инфекционная активность и отсутствие родительского типа вируса, проведен сравнительный анализ репликации в клетках COS-1. Активность эффекторной каспазы-3 количественно определяли с использованием коммерческого набора HT Titer TACSTM Apoptosis Detection Kit (Trevigen, Inc) в соответствии с рекомендациями производителя. Для этого клетки COS-1 высевали в 96-луночные планшеты и инфицировали рекомбинантным вирусом АЧС Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110 и исходным штаммом Волгоград/14с. Реакцию регистрировали на фотометре Tecan Sunrise (TECAN Austria GmbH, Австрия) при длине волны 450 нм через 3, 6, 24, 30, 48, 72 и 96 часов после заражения. Фермент TACS-нуклеаза использовали в качестве положительного контроля, а интактные клетки COS-1 служили в качестве отрицательного контроля.

Количественный анализ активации апоптоза показал, что активность эффекторной каспазы-3 в клетках COS-1, инфицированных рекомбинантным вирусом АЧС Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110, была в 1,2 раза выше ($p<0,05$) по сравнению с исходным штаммом Волгоград/14с через 48 часов после инфицирования клеток. Полученные данные показывают увеличение активности каспазы-3, что может указывать на роль генов 1L-5-6L MGF110 в активации и регуляции апоптоза.

Таким образом, установлено влияние мультигенных семейств 1L-5-6L на активацию эффекторной каспазы-3. Полученные данные помогут понять механизмы уклонения вируса АЧС от иммунного ответа хозяина.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 22-24-00552).*

# ФАУНА ПАУКОВ (CHELECERATA, ARANEI) НА ЮЖНОЙ ОКРАИНЕ Г. ТОМСКА И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ

***В. Ю. Никитенко***
Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*nikiviki411@gmail.com*

Пауки являются естественными энтомофагами и выполняют важную функцию поддержания численности насекомых, а также других беспозвоночных в окружающей среде. Изучением этих полезных беспозвоночных в Томске начали заниматься лишь в начале XX века (Ермолаев, 1927). В середине 90-х годов XX века, было опубликовано ряд работ, посвящённых антропогенной арахнофауне Томска и его окрестностей (Романенко, Лукьянцев, 1995; Лукьянцев, Романенко, 1995; и др.).

В виду актуальности исследования видового разнообразия подверженного разному антропогенному воздействию было проведено исследование фауны некоторых зон в пределах г. Томск, а также его окрестностях.

Исследование проводилось на 5 крупных зелёных территориях с разной степенью антропогенного влияния – 4 прогулочных и одной лесной зоне. Сборы проводились кошением энтомологическим сачком, визуальным осмотром стволов деревьев на уровне роста исследователя и почвенными ловушками.

Количество семейств по сравнению с прошлыми исследованиями увеличилось с 13 до 15, добавились семейства Miturgidae и Zodariidae. Доминирующими по количеству пойманных особей являются Linyphiidae (325) представляющие 23 вида, Theridiidae (141) – 1 вид, Thomisidae (65) – 5 видов, Tetragnatidae (59) – 6 видов, за ними следуют Philodromidae (45) – 4 вида, Salticidae (35) – 4 вида, Lycosidae (23) – 7 видов, Araneidae (15) – 3 вида, Clubionidae (10) – 1 вид, Sparassidae (8); единично встречаются представители семейств Gnaphosidae – 3 вида, Miturgidae – 1 вид, Nesticidae – 1 вид, Zodariidae, Dictynidae, Pisauridae.

Определение индексов сходства Жаккара для исследованных биотопов, имеющих различные по уровню антропогенного воздействия, показало сходство на уровне от 30 до 50%. Это свидетельствует о низкой схожести видового состава пауков данных территорий.

Несмотря на кратковременность исследования и ограниченность территорий сбора, был обнаружен новый вид на равнинной части Западной Сибири из семейства Linyphiidae – *Neriene hammeni*. Ранее отмечался лишь для гор Южной Сибири и Сахалина (Mikhailov, 2013). Всего было выявлено 52 вида, 15 из них найдены впервые в Томской области.

# ВЛИЯНИЕ ЭКССУДАТОВ КОРНЕЙ КАРТОФЕЛЯ, ИНФИЦИРОВАННОГО *FUSARIUM OXYSPORUM*, НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СИНТЕЗА И ПОГЛОЩЕНИЯ СИДЕРОФОРОВ РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ *BACILLUS SUBTILIS*

***А. А. Николаева*[1], *С. А. Хворова*[1], *Г. Ф. Лутфуллина*[1], *С. Г. Вологин*[2], *А. М. Марданова*[1]**

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *azazel1212@rambler.ru*

[2]Татарстанский НИИ Сельского Хозяйства, 420059, Казань, Оренбургский тракт, 48

Синтез сидерофоров ризосферными бактериями является одним из механизмов стимуляции роста растений и биоконтроля фитопатогенов. Известно, что *Bacillus subtilis* экспрессирует гены, участвующие в синтезе и поглощении сидерофора бациллибактина (BB), и системы поглощения, захватывающие ксеносидерофоры. Растения через экссудаты корней способны влиять на активность симбиотических ризобактерий. При этом формирование молекулярно-генетических взаимодействий между ризобактериями и здоровым или зараженным растением может различаться. Целью работы было исследование влияние экссудатов корней картофеля на продукцию и поглощение сидерофоров бактериями ризосферного штамма *B. subtilis* GM5.

Экссудаты получали от корней здоровых черенков и черенков, инфицированного микромицетами штамма *Fusarium oxysporum* DR57, картофеля сорта Жуковский ранний. Экссудаты картофеля получали с использованием асептических растений, выращенных in vitro на жидкой питательной среде Мурасига-Скуга. После образования корней у черенков растения опытного варианта переносили в стерильную воду, куда также вносили суспензию конидий *F. oxysporum* DR57 ($3x10^4$ конидий/мл) и инкубировали 15 минут. Затем черенки промывали гипохлоратом натрия и переносили в стерильную воду для получения экссудатов. Полученные на 7 сутки экссудаты картофеля стерилизовали через мембранный фильтр 0,22 мкн. Штамм *B. subtilis* GM5 культивировали на минимальной среде M9, содержащей экссудаты картофеля (опыт) и без экссудатов (контроль), в течении часа. Бактерии осаждали центрифугированием и выделяли РНК. Экспрессию генов синтеза бациллибактина (dhbF), регулятора транспорта бациллибактина (btr), и поглощения сидерофоров гидроксаматового (fhu BD) штамма GM5 оценивали методом ОТ-ПЦР.

Было показано, что относительная экспрессия гена dhbF, отвечающего за синтез катехольного сидерофора бациллибактина, увеличивалась в 1,7 раз при влиянии экссудатов корней здоровых растений и в 2,3 раза растений, инфицированных микромицетами. Уровень экспрессии генов btr и fhuBD также увеличивался при влиянии экссудатов корней инфицированных черенков. При этом относительная экспрессия генов fhuBD и btr в клетках *B. subtilis* GM5 в присутствии экссудатов корней здоровых черенков достоверно не отличалась от контроля.

Таким образом, экссудаты корней здоровых и инфицированных растений картофеля способны регулировать экспрессию генов, ответственных за синтез и поглощение сидерофоров. По-видимому, растения, инфицированные фитопатогенными грибами, способны усиливать продукцию некоторых сидерофоров ризосферными бактериями, что может быть важным для подавления инфекции.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-16-00138 и Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета («Приоритет-2030»).*

# СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА АСТРОВЫЕ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ООПТ КАРМАН КУРЫК

***Ю. М. Николаева*, *О. Л. Воскресенская***
Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*yuiya2511-1990@mail.ru*

Среди многочисленных функциональных систем растений, пигментная система является наиболее чувствительной к изменениям, происходящим в окружающей среде. Поэтому пигментный состав растений является очень информативным и широко применяемым показателем, который определяет работу всего фотосинтетического аппарата растительного организма.

Для изучения содержания пигментов были выбраны следующие представители семейства Астровые: нивяник обыкновенный (*Leucanthemum vulgare*), трехреберник непахучий (*Tripleurospermum inodorum*), мелколепестник однолетний (*Erigeron annuus*). Растения для анализа были собраны на территории памятника природы гора Карман Курык, расположенный в Моркинском районе Республики Марий Эл. Анализ содержания пигментов проводили спектрофотометрически. Полученные результаты обработаны статистически с помощью программы STATISTICA 6.0.

В листьях нивяника обыкновенного количество хлорофилла a составляло 0,845 мг/г. В листьях мелколепестника однолетнего и трехреберника непахучего количество хлорофилла a снижалось на 8-9%. Максимальное содержание хлорофилла b наблюдалось в листьях трехреберника непахучего (0,416 мг/г), в листьях нивяника обыкновенного его количество снижалось в 1,6 раза, в листьях мелколепестника однолетнего – в 1,8 раза.

Не только абсолютные значения содержания хлорофиллов a и b, но и их сумма имеет немаловажное значение для понимания происходящих процессов в растении. Так содержание в листьях пигментов – хлорофиллов a и b, часто связывают с величиной эффективности фотосинтеза. Как правило, при увеличении суммы хлорофиллов a и b, возрастает эффективность фотосинтеза. Наибольшим показателем суммы хлорофиллов характеризовался трехреберник непахучий, наименьшим – мелколепестник однолетний.

Еще одним немаловажным показателем, который рассматривается при изучении стрессовых воздействий на растения, является соотношение содержания хлорофиллов a и b, которое, как правило, снижается по мере увеличения стрессовой нагрузки. Соотношение содержания хлорофиллов a и b в листьях исследуемых видов растения составляло от 2,38 до 3,36. Столь высокие показатели соотношения хлорофиллов говорят об отсутствии или незначительном стрессовом факторе.

Каротиноиды – еще одна большая и очень разнообразная группа пигментов, которые выполняют ряд очень важных функций. Так наибольшим количеством данных пигментов характеризовался нивяник обыкновенный, содержание каротиноидов составляло 0,228 мг/г. Количество каротиноидов в листьях трехреберника непахучего и мелколепестника однолетнего снижалось на 3–4%.

Таким образом, содержание пигментов в листьях некоторых представителей семейства Астровые, произрастающих на территории памятника природы Карман Курык достаточно высокое, что говорит о благоприятных условиях произрастания.

# ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MICROBIAL COMMUNITIES OF THE ISHTAN MIRE

***O. S. Omotosho***

Tomsk State University, 634050, Tomsk, Lenina Ave., 36; *olumide.omotosho@stud.tsu.ru*

Peatlands play an important role in regulating the global carbon balance and the concentration of greenhouse gases $CO_2$ and $CH_4$ in the atmosphere, making them critical to climate change. Microbial communities in peat soils are the most important driving forces of biogeochemical processes. To properly understand the impact of environmental change on the functioning of peatlands, it is important to first understand the microbial diversity in these ecosystems and how microbial communities are affected by both natural and anthropogenic changes. Most research on soil bacteria has focused on the top of the peat, while the microorganisms found in the deeper layers of peat have so far been little studied in boreal areas.

The research was carried out on the Ishtan swamp, located in the left bank floodplain of the Ob River, in the vicinity of the village of Ishtan, in the southern part of the Krivosheinsky and northern Shegarsky districts of the Tomsk region. The swamp is elongated from north to south for 32 km with a maximum width of 8 km, it belongs to the geomorphological type of lowland floodplain mires. Ecologically, this peatland is a rich fen.

Samples were taken and analyzed to determine its microbiological characteristics, in particular, ecological and trophic groups of microorganisms, such as ammonifying, amylolytic, oligotrophic, humus-destroying microorganisms, micromycetes, anaerobes, cellulolytic aerobes from a depth of 0–500 cm. It is planned to study the microbial community by molecular genetic methods.

It was found that ammonifiers, amylolytics, anaerobes and humus-destroyers are the dominant microorganisms. Micromycetes and oligotrophs were present in very small numbers. A vertical stratification of the dominant ecological and trophic groups was observed, the changes in which varied depending on the thickness of the peat in the study area. The abundance of bacteria was influenced by various factors, such as the availability of easily utilizable carbon from fresh litter sources and the level of groundwater. The top layer of peat (0–30 cm) had the highest microbial number, which decreases significantly with depth starting from 80 cm.

The results show that changes in environmental factors can influence the bacterial community in the soil and play a role in the functioning of peatland ecosystems. Future studies could explore the impact of environmental changes, such as changes in groundwater levels and climate, on microbial communities in peatlands. This may help to better understand the potential impacts of climate change on the functioning of peatlands.

# ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ ОТВЕТ ГЛУТАТИОНА И ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ БАКТЕРИЙ

***К. А. Онасенко*, *А. С. Мезга, Т. Н. Ажогина, А. А. Плотников, И. С. Сазыкин***
Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344058, Ростов-на-Дону, просп. Стачки, 192/1;
*ksenya.onasenko@mail.ru*

Окислительный стресс может способствовать развитию антибиотикорезистентности у бактерий, так как он способствует дестабилизации генома бактериальной клетки, повышает уровень мутагенеза, а также приводит к увеличению количества антибиотикорезистентных бактерий за счет механизма горизонтального переноса генов между организмами. Многие исследования показывают, что воздействие антибиотиков на бактериальные клетки приводит к изменению системы антиоксидантной защиты и окислительно-восстановительных механизмов в клетке.

Исследование посвящено определению изменения активности антиоксидантных систем на примере системы глутатион-глутатионредутаза в результате воздействия на них антибиотиков, таких как азитромицин, ампициллин, рифампицин, тетрациклин и цефтриаксон.

В работе были использованы штаммы *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus erythropolis*, выделенные сотрудниками лаборатории экологии и молекулярной биологии микроорганизмов Академии биологии и биотехнологии ЮФУ из донных отложений (река Тузлов) и почвы импактной зоны Новочеркасской ГРЭС, а также штамм *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ B-10353, выделенный из воды Керченского пролива.

Концентрация белка была определена методом Лоури. Для определения количества глутатиона (GSH) был использован метод, разработанный Эллманом, а для определения активности глутатионредуктазы (GR) – метод Юсуповой.

В результате исследования установлено, что использованные в экспериментах штаммы оказались резистентными к действию некоторых антибиотиков. Причем имело значение время культивирования микроорганизмов с антибиотиками: в ряде случаев увеличение времени воздействия антибиотиков в два раза приводило к большему включению антиоксидантной системы, в других случаях, наоборот, к её подавлению. Наиболее устойчивым к воздействию антибиотиков оказался R. erythropolis.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и образования РФ в рамках проекта «Биореставрация загрязненных почвенных экосистем» (соглашение № 075-15-2022-1122) и Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета ("Приоритет 2030").*

# ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НОРОВИРУСА GII.4 SYDNEY НА ОСНОВЕ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ НЕСТРУКТУРНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ

***С. В. Опарина*[1, 2], *Н. В. Епифанова*[1], *Н. А. Новикова*[1]**

[1]Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71; *svetlanochka.o@mail.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

В последние десятилетия наблюдается активизация эпидемического процесса норовирусной инфекции, обусловливающей сезонные подъемы заболеваемости и вспышки гастроэнтерита. Начиная с 1995 года произошла последовательная смена 11-ти эпидемических вариантов генотипа GII.4, последний из которых, вариант Sydney2012, активно циркулирует в мире до настоящего момента.

Цель работы – установить основной фактор, определяющий топологию филогенетических деревьев при анализе полных и частичных нуклеотидных последовательностей генома варианта норовируса GII.4Sydney.

В исследование включены три установленные нами полные нуклеотидные последовательности генома норовирусов GII.4Sydney[P16], циркулировавших на территории Нижнего Новгорода в 2017 и 2022 гг. и 30 последовательностей норовирусов генотипов GII.4Sydney[P31], GII.4Sydney[P16] и GII.4Sydney[P4], доступных в базе данных GenBank. Для сравнения использованы последовательности предыдущего эпидемического варианта GII.4NewOrleans2009[P4] и возможного следующего эпидемического варианта GII.4HongKong2019[P31], а также референсного штамма генотипа GII.16[P16]. Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы MEGAX. Филогенетический анализ проводили в программах BEAUti v1.10.4 и BEAST v1.10.4, с визуализацией результатов в программе FigTree v1.4.4.

Филогенетический анализ на основе полногеномных нуклеотидных последовательностей норовирусов GII.4Sydney показал наличие генетических линий, соответствующих типу полимеразы вируса (RdRp) – [P31], [P16], P4]. Аналогичная топология деревьев наблюдалась при анализе последовательностей генов неструктурных белков p22 и p48, которые, как показано ранее, играют важную роль в ингибировании секреторного пути хозяина, что позволяет избежать секреции цитокинов и дальнейшего иммунного ответа. Скорость эволюции для генов RdRp, p22 и p48 составила $2{,}36 \cdot 10^{-3}$, $2{,}55 \cdot 10^{-3}$, $2{,}25 \cdot 10^{-3}$ замен нуклеотидов на сайт в год, соответственно.

При анализе генов, кодирующих структурные белки (VP1 и VP2), последовательности эпидемических вариантов GII.4NewOrleans2009[P4] и GII.4Honkong2019[P31] выделились в отдельные ветви. Последовательности варианта GII.4Sydney2012 кластеризовались в целом в соответствии со специфичностью полимеразы анализируемых штаммов, исключение составили единичные штаммы с полимеразой [P4] и [P31]. Скорость эволюции для генов VP1 и VP2 составила $2{,}91 \cdot 10^{-3}$, $2{,}96 \cdot 10^{-3}$ замен нуклеотидов на сайт в год, соответственно.

Таким образом, специфичность гена полимеразы является основным фактором, определяющим кластеризацию при филогенетическом анализе последовательностей генома длительно циркулирующего варианта GII.4Sydney, что отражает необходимость «тонкой настройки» структуры и функции всех вирусных белков для успешного распространения вируса в человеческой популяции.

# ЭФФЕКТ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА 5-HT7 РЕЦЕПТОРА В СРЕДНЕМ МОЗГЕ НА ПОВЕДЕНИЕ И ЭКСПРЕССИЮ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА BDNF У МЫШЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПОТРЕБЛЕНИИ ЭТАНОЛА

***А. С. Орешко*, Д. В. Базовкина, А. Я. Родный, В. С. Науменко**

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10; *stalavgust@gmail.com*

Нейротрофический фактор мозга BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) и серотониновая (5-HT) нейромедиаторная система участвуют в регуляции нейропластичности. Дефицит функциональной активности 5-HT системы и BDNF обусловливает развитие расстройств поведения, в том числе связанных с долговременным потреблением алкоголя. Особый интерес представляет 5-HT7 рецептор, поскольку он вовлечен в ауторегуляцию 5-HT системы мозга.

Целью работы было исследование эффекта введения в средний мозг мышей линии C57BL/6 вирусного конструкта «SynH1–2_HTR7–EGFP», вызывающего сверхэксперссию гена 5-HT7 рецептора, на поведение, содержание белков BDNF, его предшественника proBDNF и их рецепторов TrkB и p75, а также экспрессию кодирующих их генов в структурах мозга при хронической алкоголизации. В течение 6 недель после введения конструкта животные потребляли 10% этанол (контрольные мыши пили воду). Поведение изучали в тестах «открытое поле», «темно-светлая камера», «принудительное плавание». Уровни мРНК генов оценивали ОТ-ПЦР реального времени, содержание белков определяли методом Western blot.

Двигательная активность была сопоставима между группами животных. Введение конструкта с геном 5-HT7 рецептора привело к повышению уровня тревожного поведения в тесте «темно-светлая камера» у мышей, получавших и воду ($p=0,019$), и этанол ($p=0,026$). Сверхэкспрессия гена 5-HT7 рецептора обусловила снижение уровня экспрессии гена Bdnf во фронтальной коре мышей, получавших этанол ($p=0,020$). Только у животных, получавших воду, введение конструкта привело к увеличению концентрации белка proBDNF в среднем мозге ($p=0,005$), фронтальной коре ($p=0,02$) и гиппокампе ($p=0,008$), а также повышению содержания белка BDNF во фронтальной коре ($p=0,027$).

Таким образом, введение конструкта с геном 5-HT7 рецептора в средний мозг усилило показатели тревожного поведения у мышей вне зависимости от потребления этанола. В то же время длительная алкоголизация ослабила эффекты сверхэкспрессии гена 5-HT7 рецептора на содержание белков proBDNF и BDNF в структурах мозга.

*Исследование выполнено при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0010.*

# МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РЕСВЕРАТРОЛА И ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ СОМАТИЧЕСКОГО НЕРВА

***Я. С. Отряскин*, *С. И. Пиняев***
Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, 430005, Саранск, ул. Большевистская, 68;
*otryaskin.yaroslav@mail.ru*

Несмотря на предполагаемую способность периферического нерва к самовосстановлению, пожизненная инвалидность является распространенным явлением. Нейротрофины млекопитающих, включая NGF, BDNF, NT3 и NT4, играют важную роль в развитии, поддержании, восстановлении и выживании нейронов. Несколько исследований указывают на то, что снижение функционирования нейротрофинов и их рецепторов может привести к повреждению нейронов и способствовать патогенезу нейродегенеративных заболеваний. Полифенолы могут оказывать значительное нейропротекторное действие при различных патологиях нервной системы, включая травматические повреждения нервов.

Исходя из всего вышесказанного, целью работы стало изучение влияния полифенолов ресвератрола и дигидрокверцетина на изменение количества фактора роста нервов (NGF) при повреждении нерва.

В ходе изучения влияния полифенолов на фактор роста (NGF) в процессе регенерации поврежденного соматического нерва выявили следующее. В результате проведения иммуноферментного анализа была определена концентрация NGF в интактном нерве. Исходя из полученных данных, мы можем заключить, что количество фактора роста нервов увеличивается во всех участках нерва на протяжении всего периода эксперимента, причем максимальное увеличение наблюдается в дистальных участках с ресвератролом в концентрации 7 мг/кг по сравнению с дигидрокверцетином. Также в процессе изучения была определена концентрация общего белка в интактном нерве и контрольном нерве. На 30 сутки в группе с концентрацией ресвератрола 7 мг/кг в проксимальном и дистальном участках происходило увеличение общего белка на 5% и 3% соответственно, с концентрацией дигидрокверцетина 10 мг/кг в проксимальном и дистальном участках происходило увеличение общего белка на 3,5 и 2,6% соответственно.

Оценили изменение значений функционального седалищного индекса поврежденного периферического нерва в норме и после травмы. Проанализировав полученные результаты, можно утверждать, что на 30 сутки после повреждения седалищного нерва с инъекцией ресвератрола и дигидрокверцетина с концентрацией 7 мг/кг и 10 мг/кг соответственно, происходит ускорение процесса восстановления утраченной функции нерва, при этом ресвератрол оказывает более выраженное действие на восстановление иннервации, чем дигидрокверцетин.

Изучив биоэлектрическую активность в интактном нерве, при травме и при травме нерва с инъекцией ресвератрола и дигидрокверцетина, можно сказать, что процесс повреждения нерва нарушает проводимость. Использование полифенолов восстанавливает способность проводить потенциал действия, при этом биоэлектрическая активность исчезает у дистального отрезка.

# ОЦЕНКА ПРОДУКЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ И КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

***Т. С. Пак*, Е. Н. Сурнина, Т. П. Астафурова**
Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*1998tais@mail.ru*

К настоящему времени климатические изменения и возрастающие выбросы в атмосферу большого количества парниковых газов актуализируют вопросы ассимиляции атмосферного углерода природными и антропогенными экосистемами, что особенно актуально для восстановления заброшенных и деградированных пахотных земель, на долю которых в Томской области приходится 21,8 тыс. га.

Одним из путей решения этого вопроса может стать создание карбоновых ферм, условием реализации которых является наличие видов и сортов сельскохозяйственных культур, сочетающих высокую продуктивность и качество продукции с максимальной степенью секвестрации углерода. Целью исследований являлось сравнительное изучение продукционного потенциала культур яровой пшеницы и кукурузы в условиях Томской области.

Объектом исследования являлись сельскохозяйственные культуры с различной ассимилирующей активностью $CO_2$: пшеница мягкая (*Triticum aestivum*) Сорт Ирень с С3-типом фотосинтеза и кукуруза обыкновенная (*Zea mays*) Гибрид Берта с С4-типом фотосинтеза. Сравнительные измерения по морфометрическим и функциональным параметрам проводили в фазу созревания растений. Так, значения массы надземной части и площадь листовой поверхности кукурузы превышали показатели растений пшеницы в 23-25 раз, урожайность кукурузы составила 8,4 кг/м$^2$ у пшеницы – 0,249 кг/м$^2$.

Проведенные исследования выявили особенности по показателям $CO_2$/$H_2O$-газообмена листьев пшеницы и кукурузы. Интенсивность поглощения $CO_2$ была одинакова для обеих культур, в то время как испарение воды у пшеницы было выше на 64 % от значений кукурузы. Отмечено, что содержание суммы хлорофиллов у кукурузы было больше на 36 %, флавоноидов на 12 %, а индекс азотного баланса на 31%. Показано, что наибольшее количество углерода накапливает кукуруза, так в зеленой массе – 909,9 ± 59,7 г/м$^2$, в корнях – 119,2 ± 17,9 г/м$^2$. У пшеницы показатели накопления углерода были ниже – суммарное количество составило 301,09 г/м$^2$.

Таким образом, на основе анализа морфологических и физиологических параметров можно сделать вывод, что наибольшие перспективы для карбоновых ферм Томской области, представляют растения кукурузы, имеющие больший продукционный потенциал, в сравнении с растениями яровой пшеницы.

*Работа выполнена в рамках программы развития Томского государственного университета («Приоритет-2030»).*

# МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ КАПСУЛЫ С НАНОАЛМАЗАМИ И АПКОНЦЕРТИРУЮЩИМИ НАНОЧАСТИЦАМИ В СОСТАВЕ ОБОЛОЧКИ

***Т. Н. Паллаева*[1], *Т. В. Букреева*[1], *Е. В. Хайдуков*[1], *Д. Г. Щукин*[2]**

[1]ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59;
*astra44@list.ru*

[2]Ливерпульский университет, Ливерпуль L69 3BX, Великобритания

Микрокапсулы являются идеальной платформой для различных применений, таких как доставка лекарств, зондирование и визуализация, благодаря сочетанию простоты изготовления и гибкости конструкции. Среди разнообразия средств доставки, особое внимание уделяется полиэлектролитным многослойным капсулам, полученным альтернативной адсорбцией противоположно заряженных полимеров на поверхности коллоидных частиц. Преимуществом полиэлектролитных капсул является возможность варьирования их параметров, в частности, универсальная методика модификации полимерной оболочки. Включение наночастиц в состав полимерной оболочки капсул позволяет обеспечить чувствительность к внешним воздействиям, которые контролируемым образом изменяют их структуру и проницаемость.

В настоящей работе для управления термической проводимостью оболочек капсул и повышения их чувствительности к внешнему облучению впервые осуществлена модификация оболочек полиэлектролитных капсул частицами детонационных наноалмазов (НА) и наночастицами с апконверсией (АПН). Включение НА и АПН было подтверждено результатами исследования капсул методами конфокальной флуоресцентной лазерной сканирующей микроскопии и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Была продемонстрирована чувствительность полиэлектролитных капсул, модифицированных НА, к воздействию микроволнового излучения (мощность 800 Вт, частота 2,45 ГГц, 10 мин). С помощью сканирующей электронной микроскопии показано, что нанокомпозитные капсулы в результате воздействия изменяли свою морфологию: на СЭМ-изображениях наблюдаются трещины и полости в оболочках. Включение АПН в оболочку микрокапсул позволило по изменению спектра их фотолюминисценции определить локальную температуру в оболочке капсул при микроволновом облучении.

Таким образом, в работе продемонстрирована многофункциональная система доставки, основанная на дистанционном открытии полимерных капсул в ответ на внешний микроволновый триггер. Встраивание наноалмазов в сочетании с апконвертирующими наночастицами в оболочку капсулы позволило добиться чувствительности к микроволновому излучению вместе с возможностью люминесцентного теплового контроля температуры оболочки. Взаимный захват наноалмазов и апконвертирующих наночастиц позволяет контролировать информацию о тепловых эффектах обработки микроволнами в оболочке капсулы. Наноалмазы эффективно поглощают микроволны, преобразуя электромагнитную энергию в тепло. В результате однородный нагрев полиэлектролитных слоев, окружающих наноалмазы, приводит к разрушению оболочки капсулы. Разработанные многофункциональные капсулы с возможностью дистанционного открытия оболочки могут найти широкое применение в различных областях, в том числе в нанотераностике и лечении микроволновым облучением.

# ОЦЕНКА БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА L-БОРФЕНИЛАЛАНИНА *IN VIVO*

***А. А. Пахомова*[1], *И. Н. Дружкова*[2], *А. Р. Сулейманова*[2], *Н. И. Игнатова*[2], *А. В. Масленникова*[1, 2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*pakhomovaaa98@mail.ru*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) является перспективным методом терапевтического лечения злокачественных опухолей. После накопления стабильного изотопа 10B, опухолевую ткань облучают эпитепловыми нейтронами в результате чего происходит ядерная реакция в клетке. Продукты реакции распада атома бора имеют высокую скорость и малую длину пробега, поэтому эффект ограничевается размером одной клетки.

Для проведения эффективной процедуры БНЗТ концентрация 10B в опухолевой ткани должна находиться в диапазоне 20-35 мг на 1 кг ткани. Поэтому проведение доклинических исследований по биораспределению L-борфенилаланина (BPA) в живом организме является важным шагом в разработке инновационного метода терапии рака.

Цель данной работы – оценить биораспределение 10B после внутривенного введения BPA мышам линии BALB/c с использованием гетеротопических ксенографтов колоректальной опухоли CT26.

Материалом исследования служили органы и ткани мышей, взятые через 1,5, 2, 6 и 24 часа. Определение концентрации 10B в тканях проводилось с помощью метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Для оценки токсического эффекта препарата борфенилаланина было проведено гистологическое исследование опухоли, печени и кишечника мыши.

Для проведения исследования мышей наркотизировали через 1,5, 2, 6 и 24 часа после введения BPA и забирали органы. Максимальное содержание бора в опухоли составило 142,0±4,4 мкг/г через 1,5 часа после внутривенной инъекции. Однако, наиболее оптимальным для проведения облучения является временная точка 3 часа. Минимальная концентрация бора в опухоли достигнута через 5,25 часов после введения BPA, что позволяет эффективно проводить облучение нейтронами в указанный промежуток времени. Были определены органы максимально подверженные побочным эффектам при облучении: почки и кожа.

Таким образом, облучение мышей линии BALB/c с гетеротопической опухолью ксенотрансплантата CT26 возможно в течение ~5 часов после внутривенного введения BPA, однако оптимальный период составил 2-3 часа после инъекции. Важно исключить органы мочеполовой системы из-под облучения нейтронами. Также, по результатам гистологии доказано отсутствие дегенеративных изменений во внутренних органах при введении BPA.

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО D-D ГЕНЕРАТОРА НЕЙТРОНОВ *IN VITRO*: ПИЛОТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

***А. А. Пахомова*[1], *И. Н. Дружкова*[2], *Н. И. Игнатова*[2], *А. В. Масленникова*[1, 2]**
[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*forgarbage98@mail.ru*
[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) является перспективным методом лечения злокачественных опухолей. После накопления стабильного изотопа 10B, опухолевую ткань облучают эпитепловыми нейтронами в результате чего происходит ядерная реакция в клетке. Продукты реакции распада атома бора имеют высокую скорость и малую длину пробега, поэтому эффект ограничивается размером одной клетки.

Одной из наиболее существенных проблем, препятствующей широкому клиническому внедрению БНЗТ, является отсутствие компактных источников нейтронного излучения. В настоящее время в Институте прикладной физики РАН разработан новый дейтериевый генератор (D-D генератор) нейтронов для задач БНЗТ. Для оценки эффективности данного генератора на первом этапе необходимо определить его биологическую эффективность *in vitro*, где в качестве объекта выступают клеточные культуры. Цель данной работы – оценить эффективность D-D генератора нейтронов для задач БНЗТ на клеточных культурах.

Материалом исследования служили клетки линии CT26 (колоректальный рак мыши) и U87 (глиобластома человека). Облучение проводилось на нейтронном D-D генераторе ИПФ РАН. Препарат L-борфенилаланин (L-BPA). Оценка чувствительности клеток к ионизирующему облучению *in vitro* проводилась с помощью МТТ-теста и анализа колониеобразующей активности.

Исследуемые клеточные линии были разделены на три группы: BPA+N+ (клетки, культивируемые с BPA + облучение нейтронами), BPA-N+ (клетки, культивируемые без BPA + облучение нейтронами), BPA-N- (клетки, культивируемые без BPA, без облучения нейтронам). За 24 часа перед облучением клетки рассевали в культуральные флаконы по 2 млн/флакон либо в питательной среде, либо в питательной среде с добавлением L-BPA (40 мкг/мл). Через 24 часа клетки подвергали облучению, затем рассевали на культуральные планшеты для оценки жизнеспособности. Анализ жизнеспособности клеточной линии CT26 как с помощью МТТ-теста, так и с помощью анализа конониеобразования значимых отличий между исследуемыми группами выявлено не было ни в одной из исследуемых групп. Для клеток линии U87 МТТ-тест не выявил значимых отличий между исследуемыми группами, однако метод анализа колониеобразующей активности показал снижение жизнеспособности для группы BPA+N+ до 67,7±8,6 % от контроля. Таким образом, частичная эффективность исследуемого D-D генератора нейтронов была показана только для клеток линии U87, что указывает на необходимость оптимизации работы источника и проведение дополнительных исследований.

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО КОМБИНИРОВАННОГО СТРЕССА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЙ ФЕНОТИП МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

***К. А. Пелевин*[1], *Д. М. Кузьмина*[2], *Н. А. Щелчкова*[1, 2], *И. В. Мухина*[1, 2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kirill.peliovin@yandex.ru*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

На данный момент существует большое количество исследований о негативных последствиях острого и хронического стресса, однако влияние комбинированного стресса остается мало изученным. Целью исследования является изучение влияния хронического комбинированного стресса на поведенческий фенотип мышей линии C57Bl/6.

Исследование проводилось на мышах линии C57BL/6 (самцы), n=26. Контроль эксперимента осуществлялся путем исследования интактной группы. Моделирование комбинированного стресса проводилось в три этапа. Первый этап – материнская депривация, для моделирования которой детенышей частично отлучали от кормящих самок 2 по 16 постнатальный день (ПД) и полностью отлучали на 17 ПД. На втором этапе в течение двух недель с 25 ПД проводилось моделирование легкого хронического непредсказуемого стресса (ежедневное предъявление стрессоров). Третий этап – моделирование системного воспаления путем однократного внутрибрюшинного введения липополисахарида в дозировке 5 мг/кг на 65 ПД. Для оценки поведенческого фенотипа на 67-72 ПД проводились следующие поведенческие тесты: «новый объект», тест социального распознавания, тест «открытое поле», тест вынужденного плавания и выработка условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ).

В тесте «новый объект» мыши после комбинированного стресса проводили значительно меньше времени с новым объектом чем интактные, что может свидетельствовать о повреждении префронтальной коры. В исследовании социального распознавания экспериментальные животные проводили достоверно меньше времени с новым животным по сравнению с интактной группой, что свидетельствует о нарушении социального поведения и нарушении префронтальной коры и миндалины. В тесте «открытое поле» у экспериментальной группы в сравнении с интактной группой была выявлена повышенная скорость перемещения, большее значение пройденной дистанции, большее значение времени нахождения в центре арены и непродолжительное время поведенческих реакций, что является показателем снижения тревожности в результате моделирования комбинированного стресса и объясняется повышением уровня катехоламинов. В тесте вынужденного плавания между группами не было выявлено отличий между длительностью поведенческих реакций, следовательно комбинированный стресс не оказал эффекта на их соотношение, однако экспериментальная группа значительно быстрее замирала после погружения в воду, что можно объяснить готовностью к стрессовому событию. В исследовании формирования УРПИ не было выявлено достоверных отличий между группами, значит комбинированный стресс не оказал влияния на формирование рабочей памяти.

Таким образом, моделирование комбинированного стресса вызывает увеличение двигательной и исследовательской активности на фоне сниженной тревожности, при этом наблюдается дефицит социальной и объектной памяти.

*Работа выполнена в рамках государственного задания № 121030100282-6.*

# ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ ОЗОНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

***П. В. Перетягин*[1], *А. Г. Соловьева*[1, 2], *С. П. Перетягин*[3]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *peretyaginpv@gmail.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

[3]Ассоциация Российских Озонотерапевтов

Термические поражения представляют собой серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему. Это связано с высокой частотой ожоговых травм в быту, на производстве и в период военных конфликтов, сложностью и длительностью лечения таких больных, частой инвалидизацией и высокой летальностью. По данным ВОЗ, в мире ежегодно регистрируется около 180 тыс. случаев летальных исходов, вызванных ожогами.

Термическая травма сопровождается рядом отклонений и расстройств в деятельности организма в целом и со стороны сердца в частности. При обширных ожогах наблюдаются разнообразные по характеру морфологические изменения миокарда, снижается его сократительная способность, возникают различные нарушения ритма и проводимости, развивается сердечная недостаточность (СН). Повреждение сердца при ожоговой болезни на фоне существующих заболеваний сердечно-сосудистой системы может достигать значительной выраженности и быть не только причиной тяжелой СН, но и смерти пострадавших.

Известно, что озонотерапия улучшает насосную функцию сердечной мышцы, оказывает тромболитическое и сосудорасширяющее действие. Все эти эффекты способствуют стабилизации давления и улучшают кровообращение, что способствует ускоренному восстановлению поврежденных структур, отвечающих за работу сердца. Одним из современных и неинвазивных методов диагностики состояния сердца и совокупности внутренних влияний, оказываемых на него, является кардиоинтервалография с последующей оценкой вариабельности сердечного ритма.

Целью нашей работы служило изучение особенностей вариабельности сердечного ритма при термической травме и их коррекция с применением озона в эксперименте.

Эксперимент проведен на 40 крысах линии Wistar весом 250–300 г, разделенных на 4 равные по численности группы: группа 1 (n=10) – интактные животные, группа 2 (n=10) – животные с ожогом, группа 3 (n=10) – животные с ожогом и ежедневными внутрибрюшинными инфузиями 1 мл. раствора NaCl 0,9%, группа 4 (n=10) – животные с ожогом и ежедневными внутрибрюшинными инфузиями 1 мл. NaCl 0,9% с 0,6 мг растворенного озона. Инфузии начинали через час после нанесения ожога. Исследование проводилось на 3-и сутки после травмы.

Показано, что у животных в группах 2 и 3 выявлена тахикардия, а в группе 4 – брадикардия по отношению к группе 1. Коэффициент вариации сердечного ритма также был наиболее близок к интактному уровню в группе 4.

# ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ МЕЖПОЛУШАРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ У ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА С ЗПР

***В. Ю. Першина*, *М. А. Яковлева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*valerochka.pershina@gmail.com*

Одна из самых многочисленных категорией детей с ОВЗ является группа детей с ЗПР, в детском возрасте происходит активное формирование функций головного мозга. Признано, что причина дисфункциональных нарушений работы мозга у детей с ЗПР связана с функционированием мозолистого тела. Для оценки функциональных особенностей мозолистого тела нами проведено исследование группы детей в возрасте 6–7 лет. В их числе дети с задержкой психического развития (ЗПР). Обследование проводили в детских садах №199 и №391 в г. Нижний Новгород. Тестирование проходило в первой половине дня, были собраны формы согласия от законных представителей.

Для изучения и оценки межполушарных взаимодействий выбрали программу для создания экспериментов в области неврологии и экспериментальной психологии PsychoPy. Были созданы эксперименты по оценке простой и сложной сенсомоторной реакций. В первом случае стимулы появлялись через одинаковые промежутки времени, во втором – время предъявления варьировало. Другой эксперимент также определял латентный период СР, в данном варианте методики ребенку предъявляли изображения четырех предметов, которые имели два варианта цветовой гаммы – нормальная, то есть привычной и аномальная (с нехарактерными для предмета цветом).

Статистическая обработка проводилась с помощью программы Microsoft Excel. При анализе данных получили следующие результаты: нами обнаружено, что время моторной реакции на изображения с аномальной и привычной окраской у детей группы нормотипии отличаются, (достоверность различий $p<0,05$), при этом различий в моторной реакции у детей с ЗПР на такие же стимулы не выявлено. Таким образом, можно предположить, что дети с ЗПР реагируют на изображения (на аномальные и на привычные) как на обычный визуальный символ, что можно трактовать как отсутствие согласованной работы обоих полушарий.

При использовании в тестировании изображений предметов с аномальной цветовой гаммой у детей задействуются оба полушария головного мозга, активируется работа мозолистого тела. Оно согласовывает постоянную работу, дает возможность упорядочить передачу и получение сигналов от левого и правого полушарий, поэтому мы и обнаружили разницу во времени ответа на изображения с аномальной и привычной окраской у детей группы нормотипия.

Нами проводится разработка программы кинезиологических упражнений для ежедневных занятий с детьми с задержкой психического развития, предназначенной для коррекции нарушений межполушарных взаимодействий.

# ВЛИЯНИЕ АПИТОКСИНА И ГИПЕРТЕРМИИ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

***Д. С. Петров*, М. А. Шабалин, П. А. Попова, З. В. Туктарова, Д. А. Нефёдова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*d24petrov2001@mail.ru*

В современном мире злокачественные новообразования занимают второе место по причине смертности среди населения, уступая сердечно-сосудистым заболеваниям. В настоящее время активно развиваются методы борьбы с онкологией, применяются новые комбинации терапии. В России данная проблема остается актуальной, так как летальность на высоком уровне.

Моновоздействие гипертермии не может считаться стандартной терапией, актуально ее сочетанное применение в онкологической практике. Апитоксин в малых дозах повышает выносливость организма. Пчелиный яд повышает устойчивость к гипертермии, поэтому интерес их совместного применения в терапии онкологических заболеваний является актуальным. Цель работы: исследование выживаемости крыс-опухоленосителей на фоне апитоксина и гипертермии.

Исследование проводилось на 60-ти крысах-опухоленосителях линии Wistar, по 5 крыс в каждой группе. Опухолевый штамм РС–1, полученный в РОНЦ им. Н.И. Блохина, перевивали подкожно в паховую область, спустя 14 суток животных вводили в эксперимент. Для увеличения адаптационных возможностей использовали раствор яда пчелы медоносной (0,5 мг/кг и в объеме 0,5 мл), вводился внутрибрюшинно за 15 минут до гипертермии. Животных нагревали до 42, 43 и 44°С в термокамере. Температуру измеряли ректально. Животных разделили на группы: Интактные (без воздействий), Контроль – животные-опухоленосители (0,5 мл физраствора), 3 группа – животные с введением апитоксина, 4 группа – животные-опухоленосители с введением яда пчелы. Рассчитывали выживаемость с момента запуска в термокамеру и до потери признаков жизни. Расчет времени вели секундомером. Статистическую обработку проводили по t-критерию Стьюдента.

В ходе эксперимента установили, что при гипертермии 42°С продолжительность жизни составила 29,22±0,765 мин. При 43°С выживаемость увеличилась до 31±1,885 мин., однако при 44°С снизилась до 28±0,765 мин. В контрольной группе, при гипертермии 42°С продолжительность жизни составила 27,27±1,826 мин. При 43°С выживаемость составила 27,40±1,019 мин. При гипертермии 44°С продолжительность жизни снизилась до 21,42±1,279 мин. У животных с введением яда при экспозиции 42°С выживаемость сократилась на 8,12 мин., при 44°С на 3,26 мин., при 43°С продолжительность жизни увеличилась на 8,12 мин., по сравнению с интактной группой. При сочетанном действии гипертермии и пчелиного яда у крыс-опухоленосителей наблюдали увеличение выживаемости на 4 мин. при экспозиции 42°С; на 17 мин. при экспозиции 43°С и на 1,38 мин. при экспозиции 44°С по сравнению с контролем.

Таким образом, апитоксин усиливает выживаемость организма при гипертермии.

# ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ КАРТОФЕЛЯ

***А. А. Печёрина*, Д. А. Занегина, А. А. Димитриева, М. А. Гринберг, А. А. Брилкина, В. А. Воденеев**

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*pechyorinaa@gmail.com*

Засоление является одним из важнейших стрессирующих факторов, оказывающим влияние на рост и продуктивность растений. Оно вызывает осмотический и ионный стресс, что затрудняет разделение влияния этих эффектов на сигнальные системы (например, $Ca^{2+}$, АФК, $H^+$) и физиологические процессы. Целью данной работы было исследование изменения pHcyt, параметров фотосинтеза и водного обмена у растений картофеля при засолении.

В работе использовали растения картофеля (*S. tuberosum*) возрастом 4 недели с pH-чувствительным сенсором Pt-GFP. Растения картофеля обрабатывали раствором 400 мМ NaCl и исследовали в течение 3 дней в установке PlantExplorerPro+ (PhenoVation, Нидерланды), в которой производили измерения в листьях параметров: флуоресценции ФСII в адаптированном к темноте состоянии (Fv/Fm), эффективного квантового выхода ФСII ($\Phi_{PSII}$), нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) и флуоресценции Pt-GFP при освещении диодами 470 нм и 405 нм (флуоресценцию принимали в диапазоне 505-525 нм). Влияние на водный обмен определяли с помощью параметров CWSI (коррелирует с изменением транспирации) и RWC (отражает содержание воды). Термограммы для определения CWSI получали термоимиджером Testo 885 (Testo, Germany). Содержание ионов $Na^+$, $K^+$ и $Cl^-$ исследовали ион-селективными макроэлектродами (НПО Измерительная техника МТ, Россия), подключенных к иономеру ИПЛ-115 (Семико, Россия).

Засоление приводит к снижению CWSI через 3 часа, $\Phi_{PSII}$ – через 10 часов, Fv/Fm – через 34 часа, закислению цитозоля через 9 часов, при начале поступления ионов $Na^+$ в листья через 10 часов после начала засоления. Изменение $\Phi_{PSII}$ и NPQ могут быть вызваны снижением транспирации и pHcyt, которое не связано с накоплением $Na^+$ и $Cl^-$ в листьях, а скорее всего, является результатом активации сигнальных систем (в первую очередь $Ca^{2+}$) в корнях. Для проверки этой гипотезы микрорастения картофеля подвергали обработке ингибитором кальциевых каналов $LaCl_3$, а затем раствором 200 мМ NaCl и фиксировали изменение флуоресценции Pt-GFP в стебле в имиджере DVS-03 (ИФТ РАН, Россия) с возбуждающими светодиодами 395/25 нм и 490/20 нм и CMOS-камерой с фильтром 535/43 нм. У растений, обработанных $LaCl_3$, наблюдалось запаздывающее распространение изменения pHcyt по стеблю, следовательно, начальные изменения физиологических процессов в листьях могут быть вызваны кальциевой волной, индуцированной в корнях.

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 22-14-00388.*

# АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА СТРЕССОВЫХ ГОРМОНОВ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

***П. А. Пирогова*, Т. А. Здобнова, А. В. Иванова, М. М. Ладейнова, М. А. Гринберг, В. А. Воденеев**

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*poly.h@mail.ru*

В условиях хронического воздействия ионизирующего излучения (ИИ) у растений происходит изменение физиологических процессов, статуса сигнальных систем и модификация стрессовых сигналов, формирующих адаптации к факторам среды. Один из ключевых типов стрессовых сигналов – электрические сигналы (ЭС). Функциональный ответ на ЭС формируется совместно с другими сигнальными системами, включая гормональную. Стрессовые гормоны, концентрация которых возрастает после распространения ЭС, участвуют в изменении активности фотосинтеза, уровня транспирации, экспрессии генов. Показано, что ИИ способно оказывать эффекты на параметры ЭС и вызванных им функциональных ответов, что может быть обусловлено изменением экспрессии генов ферментов, участвующих в синтезе фитогормонов.

В качестве объекта исследования использовали 15-дневные проростки пшеницы мягкой (*Triticum aestivum*) сорта «Дарья». Весь период выращивания экспериментальную группу подвергали облучению β-излучателем $^{90}$Sr-$^{90}$Y (активность – 0,1 МБк, мощность дозы – 31,3 мкГр/час). Относительный уровень экспрессии генов оценивали методом ПЦР «в реальном времени». В работе анализировали гены белков биосинтеза стрессовых фитогормонов. Дизайн праймеров интересующих генов для ПЦР «в реальном времени» проводили с соблюдением необходимых параметров. В качестве референсных генов использовали β-актин (ActB) и гомолог белка слияния вакуолей (MON1). Полученные результаты обрабатывали по методике ΔΔCt.

В ходе работы были подобраны праймеры для генов ферментов биосинтеза стрессовых фитогормонов: абсцизовая кислота – 9-цис-эпоксикаротиноид-диоксигеназа (NCED3), ксантоксин-дегидрогеназа (ABA2), β-глюкозидаза (BG1); жасмоновая кислота – липоксигеназа (LOX6), алленоксид-синтаза (AOS), 12-ОФДК-редуктаза (OPR2), жасмоноил-L-амино-синтетаза (JAR1); салициловая кислота – изохоризмат-синтаза (ICS2). По результатам ПЦР «в реальном времени» определили относительный уровень экспрессии генов интереса у облученных растений. Обнаружено увеличение экспрессии гена изохоризмат-синтазы. Проведенный анализ экспрессии генов интереса позволяет определить вклад генетической регуляции в эффекты ИИ на стрессовый сигналинг.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 23-24-00340).*

# РЕОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

***А. С. Пискунова*, *М. Ю. Ходанович***
Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*piskunova-sasha@mail.ru*

Инсульт является одним из самых распространенных заболеваний взрослого населения. По статистике Всемирной организации здравоохранения ежегодно регистрируется более полумиллиона инсультов, смертность от этого заболевания – 127 смертей на каждые 100 тысяч человек в год.

Ранее в исследованиях было показано, что ишемическое повреждение мозга приводит к гибели клеток нервной ткани. Однако в области ишемического очага выявлено наличие процессов, обладающих большим регенеративным потенциалом, в том числе увеличение предшественников новых нейронов, астроцитов и олигодендроцитов в ответ на ишемию, рост новых аксонов и миелинизация, реорганизация прилегающих неповрежденных структур.

Исследование проводилось на взрослых крысах-самцах (n=17) линии Sprague-Dawley. Животные были поделены на группы согласно времени выведения из эксперимента: 30-дневные (n=5), 60-дневные (n=6) и ложнооперированные (n=6), выступающие в качестве контроля. Локальная ишемия головного мозга моделировалась путем временной окклюзии срединной церебральной артерии (MCAO).

Работа заключалась в обработке изображений и выделении исследуемых структур (мозолистого тела, бледного шара и внутренней капсулы) с помощью программы ImageJ (National Institutes of Health, USA). В выделенных регионах измерялись значения площади сечения, интегральной интенсивности и плотности миелинизации в ипсилатеральном и контралатеральном полушарии.

Анализировали различия для исследуемых структур по абсолютным значениям между полушариями: поврежденным-ипсилатеральным и неповрежденным-контрлатеральным. Была выдвинута гипотеза о том, что гибель нейронов коры после ишемии приводит к разрастанию мозолистого тела, бледного шара и внутренней капсулы в контрлатеральном полушарии, являясь результатом гиперкомпенсации.

В результате исследования выяснено, что через 30 и 60 дней после моделирования локальной ишемии значимо увеличивается асимметрия между полушариями для внутренней капсулы ($p=0,006$) и бледного шара ($p=0,007$) за счёт увеличения площади сечения этих структур мозга.

Через 30 и 60 дней после моделирования локальной ишемии значимо увеличивается асимметрия плотности миелина между полушариями для мозолистого тела ($p=0,003$). Полученные результаты имеют большое значение для понимания фундаментальных механизмов регенерации в мозге после ишемического повреждения и требуют дальнейшего изучения.

# ИЗУЧЕНИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ ЧЕРНОПЛОДНОЙ РЯБИНЫ (*SORBARONIA MITSCHURINII*) НА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

***Е. Ю. Платонова*[1, 2], *Н. В. Земская*[1], *М. В. Шапошников*[1], *А. А. Москалев*[1]**
[1]Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; *Dega37@yandex.ru*
[2]Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина, 167001, Сыктывкар, Октябрьский просп., 55

*Sorbaronia mitschurinii* (также известная как *Aronia mitschurinii*) представляет собой межродовой гибрид *Sorbaronia fallax* и *Aronia melanocarpa*. *S. mitschurinii* является богатым источником фитохимических веществ, таких как флавоноиды и антоцианы, которые обладают широким спектром полезных для здоровья свойств и большим геропротекторным потенциалом. Многочисленные исследования подтвердили, что диета, богатая растительной пищей (ягоды, фрукты и овощи) обеспечивает функциональные преимущества для здоровья человека и защищает от рака, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, остеопороза и нейродегенеративных болезней.

Экспериментальные исследования показали, что оздоровительные свойства продуктов черноплодной рябины (таких как экстракты из ягод, листьев и стеблей) могут быть связаны с их сильным антиоксидантным, противоопухолевым, противовоспалительным, гастропротекторным действием и улучшения липидного обмена в модельном организме.

Целью нашей работы было изучение геропротекторного потенциала экстракта плодов черноплодной рябины (*S. mitschurinii*) на модели *Drosophila melanogaster*.

В результате было обнаружено, что использование этанольного ягодного экстракта черноплодной рябины в низких концентрациях (0.1, 1 и 5 мг/мл) и в течение ограниченного периода (две недели) жизни имаго на 4-5 неделе вызывает увеличение медианной и максимальной продолжительности жизни особей *D. melanogaster*. Также, добавление на протяжении всей жизни экстракта плодов черноплодной рябины в рацион увеличивает двигательную активность у самок плодовых мушек в возрасте 4 недель. Кроме того, обработка ягодным экстрактом черноплодной рябины в возрасте 4-5 недель привела к достоверному снижению количества самок (на 8 неделе жизни) *D. melanogaster* с нарушением целостности интестинального барьера, по сравнению с контролем. При добавлении на протяжении всей жизни в рацион дрозофилы этанольного экстракта плодов черноплодной рябины увеличивается устойчивость к окислительному стрессу и голоданию, но не к гипертермии.

Таким образом, выявлено, что этанольный ягодный экстракт черноплодной рябины (*S. mitschurinii*) проявляет геропротекторный потенциал на модельном организме – *D. melanogaster*.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели Drosophila melanogaster» (№ 122040600022-1).*

# ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ ЗЕЛЕНЫХ ЛЯГУШЕК РОДА *PELOPHYLAX* В УСЛОВИЯХ СРЕДОВОГО СТРЕССА

***В. Д. Плотникова*, *Е. С. Рябинина*, *Е. Б. Романова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*psyche_medea@mail.ru*

Цель работы – сравнительная оценка лейкоцитарного профиля озерных и прудовых лягушек, обитающих в различных и сходных гидрохимических условиях среды.

Материалом служили озерные и прудовые лягушки водных объектов Нижегородской области. В пробах воды спектрофотометрически определены основные загрязнители, и произведен расчет удельного комбинаторного индекса загрязненности воды. Лейкоцитарную формулу определяли на окрашенных препаратах крови с расчетом интегральных индексов. Статистическая обработка проводилась с использованием программ Statistica 8.0 и R-studio.

Приоритетными загрязнителями водных объектов являлись природные соединения (железо, марганец) и элементы техногенного происхождения (медь, хром, сульфаты, цинк, никель, свинец). Классификация водных объектов методом главных компонент выделила четыре кластера. Наиболее выраженные отклонения лейкоцитарного профиля, свидетельствующие о преобладании в иммунном ответе клеток гранулоцитарного ряда при некотором отставании клеток лимфоцитарно-моноцитарного звена, отмечены у озерных лягушек I-го кластера, с более высокими показателями лейкоцитарных индексов, что иллюстрировало сильное внешнее стрессовое воздействие. Реакцией прудовых лягушек на высокий уровень загрязнения, являлась активация специфической иммунной составляющей, проявляющейся повышением содержания в крови лимфоцитов. Процесс иммунологической перестройки в организме озерных и прудовых лягушек, обитающих в разных биотопических условиях, отражала и динамика лейкоцитарных индексов: индекса соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ), лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ), реактивного ответа нейтрофилов (РОН), индекса соотношения нейтрофилов и эозинофилов (ИСНЭ), индекса сдвига лейкоцитов (ИСЛ).

В сходных гидрохимических условиях I кластера у озерных лягушек по сравнению с прудовыми отмечена активация неспецифической резистентности организма, проявляющаяся возрастанием доли более юных форм гранулоцитов. Специфическая реакция иммунной системы обоих видов была сопоставима, поскольку межвидовых различий по содержанию лимфоцитов не обнаружено. В условиях IV кластера тип адаптации прудовых и озерных лягушек определялся как «стрессовый». Снижение доли лимфоцитов, лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ) и повышение индекса соотношения нейтрофилов к лимфоцитам (ИСНЛ) свидетельствовало о незавершенности иммунных реакций организма и недостаточном ресурсе адаптационных механизмов и было более выражено у озерных лягушек.

# УБИКВИТИНЛИГАЗА *AT1G15640* КАК КАНДИДАТНЫЙ ГЕН УСТОЙЧИВОСТИ *ARABIDOPSIS THALIANA* К ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

***М. С. Подлуцкий*[1], *В. С. Воронежская*[1], *М. Ю. Пододед*[1], *Д. Д. Бабина*[1], *Е. М. Шестерикова*[1], *Е. А. Казакова*[1], *П. Ю. Волкова*[2]**

[1]Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Обнинск, Киевское шоссе, 1/1; *mikhail.podlutskii@gmail.com*

[2]Независимый исследователь, г. Гел, Бельгия

Семена растений *Arabidopsis thaliana* были собраны с двух экспериментальных участков с различными уровнями радиоактивного загрязнения: Бабчин (*Bab*, P = 0,29 мкГр/ч) и Масаны (*Masa*, P = 8,0 мкГр/ч), расположенных на территории Полесского государственного радиоэкологического заповедника (Республика Беларусь).

Часть отобранных семян дополнительно подвергали острому воздействию гамма-излучения (D = 150 Гр, ¼ $LD_{50}$) с использованием уникальной исследовательской установки ГУР-120 ($^{60}Co$, P = 460 Гр/ч), высаживали вместе с необлученными семенами на питательную среду половинной концентрации Мурасиге-Скуга и проращивали в фитотроне в течение 13-ти дней в режиме длинного светового дня.

Из проростков, полученных из необлученных семян *A. thaliana*, выделяли геномную ДНК с использованием набора регентов «СОРБ-ГМО-Б». Тотальную РНК выделяли из всех проростков с использованием GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit. Первичный анализ качества нуклеиновых кислот проводили на спектрофотометре NanoDrop OneC. Полученные образцы передавали в компанию ЗАО «Евроген» для выполнения секвенирования на приборе Illumina NovaSeq 6000 в режиме парных прочтений.

Для оценки качества данных секвенирования использовали FastQC v. 0.11.9 и MultiQC и v. 1.10. Триммирование данных выполняли с помощью Trimmomatic v. 0.39. В качестве эталонного генома использовали TAIR10, полученный из базы данных *EnsemblPlants*. Для изучения однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) применяли samtools v. 1.16.1, bwa-mem2 v.2.2.1, GATK4 v.4.3.0, SnpEff v.1.1, позволившие идентифицировать возможные варианты генетической изменчивости. Транскриптомный анализ был выполнен с использованием набора программ HISAT2 v 2.1, StringTie v 2.11, edgeR v 3.14 и agriGO Analysis Toolkit.

После дополнительного острого облучения морфологический ответ линии *Masa* свидетельствовал о ее более высокой радиоустойчивости по сравнению с контрольной линией *Bab*. Среди 46 дифференциально экспрессируемых генов, характерных для проростков линии *Masa* в ответ на острое дополнительное гамма-облучение, был обнаружен кандидатный ген устойчивости к ионизирующему излучению *AT1G15640*, характеризующийся повышенными уровнями экспрессии ($log_2FC$ = 7,93), который кодирует трансмембранный белок с неизвестной функцией, последовательность которого схожа с убиквитинлигазой, участвующей в регуляции протеолиза. В экзонной области гена *AT1G15640* также были идентифицированы 6 SNP, которые могут изменять трансформацию и, следовательно, функциональные особенности белка, повышая устойчивость растений *A. thaliana* к хроническому радиационному воздействию. Необходима дальнейшая молекулярная характеристика данного гена и анализ фенотипов мутантных линий по их устойчивости к радиации и иных стрессовым факторам.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-74-10004).*

# АНАЛИЗ ОТВЕТА МУТАНТНОЙ ЛИНИИ *HPCA1 ARABIDOPSIS THALIANA* НА КОМБИНАЦИЮ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ВКЛЮЧАЯ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЕ

***М. Ю. Подобед*[1], *Д. Д. Бабина*[1], *Я. А. Манухина*[1], *А. А. Празян*[1], *М. С. Подлуцкий*[1], *И. А. Пишенин*[1], *П. Ю. Волкова*[2], *Е. В. Бондаренко*[1]**

[1]Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Обнинск, Киевское шоссе, 1/1; *podobedmyu@gmail.com*

[2]Независимый исследователь, г. Гел, Бельгия

Идентификация у *Arabidopsis thaliana* рецептора HPCA1 как сенсора апопластного пероксида водорода – важное достижение последних лет, необходимое для понимания связи между окислительно-восстановительной регуляцией цитозольного $Ca^{2+}$ в растениях и ответом на различные внешние стимулы и внутренние сигналы. Ген *HPCA1* (локус *AT5G49760*) кодирует рецепторную серин/треониновую киназу с лейцин-насыщенными повторами, которая распознает внеклеточный пероксид водорода, необходимый для системной передачи сигналов в ответ на различные факторы, реакцию и акклиматизацию растений к стрессу.

В работе использовали семена *A. thaliana* дикого типа Col-8 и мутантной линии *hpca1* (*SAIL_840_E05.C*). Для выращивания использовали питательную среду Мурасиге-Скуга половинной концентрации. Объект исследования подвергался воздействию следующих факторов и их комбинации: γ-излучение, метилвиологен и температура. Семена облучали на уникальной научной установке ГУР-120 в ФГБНУ ВНИИРАЭ (источник – $^{60}Co$) в бумажных пакетах в дозе 25 Гр при мощности дозы 60 Гр/ч. Окислительный стресс моделировали добавлением метилвиологена (MB, N,N'-диметил-4.4'-дипиридилия дихлорид, M=257.16 г/моль, Sigma-Aldrich) в среду в концентрации 0.001 мкМ. При моделировании гипертермии, семена нагревали в термостате (BINDER BD 115) при 50 °C в течение 2 часов.

Эффект от каждого воздействия стрессоров оценивался по следующим показателям: площадь поверхности листьев на 7 сутки, длина корней на 7 сутки, средняя масса одного проростка и два фотосинтетических параметра: $F_v/F_M$, Y(II) на 17-18 сутки. Выраженность каждого воздействия оценивали, основываясь на шкале ранжирования, состоящей из 16 ступеней (по количеству исследуемых стрессовых воздействий, включая контроль). Далее ранги, полученные для всех пяти показателей, суммировали. По итоговой сумме была предложена оценка воздействий для каждого генотипа отдельно, по которой на первом месте оказывалось воздействие с максимальным суммарным стимулирующим эффектом, а на последнем – с максимальным ингибирующим эффектом.

Для Col-8 самый высокий ранг был получен для контрольных растений, а для мутантного генотипа *hpca1* самые высокие показатели были представлены после воздействия MB, при этом сочетание MB с температурой или с γ-излучением показывало выраженный ингибирующий эффект.

# ДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

***А. А. Половинкина*, *Д. А. Данилова*, *А. В. Дерюгина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*skokova1999@mail.ru*

Согласно мировой статистике, ведущими причинами смертности населения являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Среди них особое место занимает хроническая сердечная недостаточность (ХСН). Важная этиологическая группа ХСН представлена больными с поражением клапанов сердца. Развитие сердечно-сосудистых патологий (ССП) связано с интенсификацией процессов липопероксидации, что обосновывает использование соединений, обладающих антиоксидантным действием. Согласно многочисленным исследованиям, молекулярный водород ($H_2$) – это перспективная молекула с широким спектром эффектов, имеющая ряд преимуществ перед другими антиоксидантами: свободно проникает через мембраны, не проявляет токсических эффектов на клетку и избирательно действует на высокореактивные гидроксильные радикалы, не нарушая метаболические окислительно-восстановительные реакции. При этом действие $H_2$ на процессы липопероксидации при ССЗ исследовано не значительно. Целью работы являлось изучение эффективности $H_2$ при нивелировании оксидантных процессов в плазме крови при ССП.

Материалом для исследований послужила кровь крыс с моделированной ХСН и периферическая венозная кровь кардиохирургических больных, прооперированных в условиях искусственного кровообращения (ИК) в ГБУЗ НО «СККБ». ХСН моделировали у крыс линии Wistar путем 3-кратного, через 48 ч, внутрибрюшинного введения адреналина гидрохлорида 0,3 мг/кг массы тела. Экспериментальной группе животных проводили ингаляции 2% молекулярным водородом по 40 мин в течение 5 сут. Контролем служили животные после моделирования ХСН без ингаляции водорода. 20 пациентам вводили $H_2$ в контур ИК (воздействие до 2 и более 2 часов), в группе сравнения терапия $H_2$ не проводилась. Содержание диеновых (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) плазмы крови определяли спектрофотометрически.

Полученные результаты показали, что при использовании молекулярного водорода у крыс с моделированной ХСН отмечалось снижение концентрации ДК, ТК на 1-5 сутки, концентрации ОШ к 3-5 суткам эксперимента. У кардиохирургических больных при воздействии до 2 часов ДК и ТК снижались с 30 минуты ИК, ОШ – перед началом ИК. К концу операции наблюдалось снижение ДК и ОШ по отношению к значениям до операции. При воздействии свыше 2 часов содержание ДК снизилось перед началом ИК, ТК – к концу ИК, а ОШ – на 60 минуте ИК. Также регистрировалось снижение всех исследуемых показателей к концу операции. При этом ОШ снижались к концу операции в 1,5 раза в обеих исследуемых группах. Это позволяет предположить, что действие $H_2$ способствует снижению процессов липопероксидации, и может применяться в качестве эффективного антиоксиданта при сердечно-сосудистых патологиях, что требует дальнейших исследований.

# ВЛИЯНИЕ КРИОТЕРАПИИ НА РЕГЕНЕРАТИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

***О. В. Попова*, *Е. А. Репина, И. И. Николаев, С. В. Копылова, Е. В. Крылова, Д. А. Данилова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Травмы при занятиях спортом возникают относительно редко по сравнению с другими видами травматизма и составляют около 3% от общего числа травм. Однако спортивная травматизация имеет собственную специфику. В связи с этим необходимо создание мощной физиологической базы профилактики. При своевременном лечении травмированных пациентов возможно полное восстановление мышечной ткани и последующее возвращение в спорт и ведение активного образа жизни. Одним из способов профилактики и лечения травматизации биологических тканей является криотерапия.

Проведена адаптация метода моделирования травм мышц на лабораторных животных (крысах), получена воспроизводимая модель. Способом лечения экспериментальных травм использовали метод сверхнизких температур парожидкостной смеси жидкого азота (-196°С). Была проведена оценка функциональных и физических способностей лабораторных животных двумя методами с последующей статистической обработкой.

Функциональную способность оценивали по показателю стойки с упором на задние лапы с «замиранием», где увеличивали угол нагрузки до тех пор, пока крыса была способна удержаться на ней («критичный» уровень), тем самым оценивали силу удержания и цеплятельную способность животного. Функциональную оценку крыс проводили на 1, 3, 5, 7, 10 сутки после лечения.

Физическую активность оценивали по методу «вынужденного плавания» в цилиндрическом бассейне. В качестве груза использовали гирьку весом 10% от массы тела крысы (25–30 г), которую фиксировали в области крестца животного бинтовой повязкой. Засекали время удержания крысы на плаву, тем самым оценивали силу и выносливость. Физическую оценку проводили на 1, 3, 5, 7, 10 сутки.

Доказано, что при проведении лечения травмы криотерапией функциональная активность лабораторных животных восстанавливается быстрее, чем без действия сверхнизких температур, что говорит об эффективности данного вида лечения.

# ВЛИЯНИИ АПИТОКСИНА И ГИПЕРТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

***П. П. Попова*, М. А. Шабалин, З. В. Туктарова, Д. С. Петров, Д. А. Нефёдова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*polinkapopowa@gmail.com*

Злокачественные новообразования являются одной из основных проблем здравоохранения. Решение проблемы онкологических заболеваний находится в центре внимания многочисленных исследований и является актуальным для современной медицины. Показано, что одним из возможных путей повышения эффективности лечения злокачественных опухолей является применение комбинированной терапии. Однако совместное действие пчелиного яда и гипертермии на процессы перекисного окисления липидов в опухолевой ткани недостаточно изучено.

Целью работы являлось изучение динамики концентрации антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (СОД) в гомогенате опухолевой ткани при действии апитоксина и повышенной температуры.

Исследование проводилось на крысах-опухоленосителях линии Wistar (с перевитой опухолью РС-1), которым внутрибрюшинно вводили пчелиный яд в концентрации 0,5 мг/кг и в объеме 0,5 мл. за 15 минут до начала гипертермии. Контрольной группе животных-опухоленосителей вводили внутрибрюшинно физиологический раствор в объеме 0,5 мл. Сеансы общей гипертермии проводились в термокамере с автоматической стабилизацией температуры в течение 15 минут до 42°С, 43°С, 44°С. Терапию проводили в течение 7 суток. Опухолевую ткань забирали из организма на 1, 7 и 14 сутки после терапии. Исследования проводили на гомогенате. Учет результатов по всем показателям проводили спектрофотометрически.

Полученные результаты показали увеличение активности супероксиддисмутазы в ходе эксперимента. По отношению к контролю максимальное увеличение наблюдалось на 14 сутки во всех трех группах, при экспозиции 42°С на 383%, при 43°С на 348%, при 44°С на 342%. В группе, подвергшейся моновоздействию гипертермии наибольшее увеличение СОД регистрировалось на 7 сутки при экспозиции 43°С на 281% по отношению к контролю.

Из литературных источников известно, что меллитин обладает мембранодиструктирующими свойствами и за счет образования каналов может усиливать проникновение различных веществ в опухолевые клетки. Действие апитоксина на опухоль увеличивает активность СОД. СОД индуцирует антиоксидантную систему и инактивирует свободные радикалы, тем самым снижая окислительный стресс.

Таким образом, комбинированное действие гипертермии и пчелиного яда благоприятно влияют на антиоксидантную систему и открывает перспективы для дальнейшего экспериментального и клинического исследования пчелиного яда, в качестве компонента терапии онкологических заболеваний.

# ВЛИЯНИЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СУХОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ *FUSARIUM OXYSPORUM* НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СИНТЕЗА И ПОГЛОЩЕНИЯ СИДЕРОФОРОВ БИОКОНТРОЛЬНЫМ ШТАММОМ *BACILLUS SUBTILIS*

***Т. М. Попова, Т. Е. Андреева, Л. М. Сабирова, А. А. Николаева***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*olen22012001@gmail.com*

Штамм *Bacillus subtilis* GM5 является перспективным для использования в качестве биопрепаратов для защиты растений благодаря его высокой антагонистической активности по отношению к фитопатогенам. Его антагонистическая функция зависит от разнообразного спектра вторичных метаболитов, в том числе сидерофоров – низкомолекулярных высокоаффинных хелаторов железа. Кроме синтеза катехолового сидерофора бациллибактина, штаммы *B. subtilis* способны поглощать сидерофоры, продуцируемые другими микроорганизмами, что может быть еще одним путем ограничения роста фитопатогенов. Целью работы был анализ влияния метаболитов *Fusarium oxysporum* DR57 на экспрессию генов синтеза и поглощения сидерофоров штаммом *B. subtilis* GM5. Экзометаболиты микромицета *F. oxysporum* DR57, возбудителя сухой гнили клубней картофеля, получали при культивировании на минимальной среде M9 в течение 7 суток. После удаления крупных частей мицелия и осаждения клеток культуральную жидкость микромицета стерилизовали через мембранный фильтр 0,22 мкн. Биоконтрольный штамм GM5 культивировали на среде M9 в течении 48 часов, добавляли 10% экзометаболитов DR57 и культивировали в течении часа, после чего бактерии осаждали центрифугированием и выделяли РНК. Экспрессию генов синтеза бациллибактина (dhbF), регулятора транспорта бациллибактина (btr), и поглощения сидерофоров гидроксаматового (fhu B) и катехолового типов (feuA и pbtN) штамма GM5 оценивали методом ОТ-ПЦР.

Было отмечено, что относительная экспрессия генов dhbF и btr повысилась в 3,5 и 2 раза соответственно под влиянием экзометаболитов DR57. Уровень экспрессии гена feuA, ответственного за поглощение бациллибактина, наоборот, достоверно снижался в 1,7 раз. При этом относительная экспрессия генов fhuB и pbtN достоверно не отличалась от контроля.

Таким образом, установлено, что экзометаболиты *F. oxysporum* DR57 способны избирательно регулировать экспрессию генов, ответственных за синтез и поглощение сидерофоров ризосферной бактерией *B. subtilis*. Продукция сидерофоров может усиливать или расширять антибиотическую активность ризосферных бактерий против фитопатогенов путем конкуренции за счет удаления железа или прямым антибиозом.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-16-00138 и Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (Приоритет-2030).*

# РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА РАЗВИТИЯ СЕМЯН ПРИ ИСКУССТВЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ТУБЕРОИДНЫХ ОРХИДНЫХ В БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ИББМ ННГУ

***А. М. Прокин***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*prokinam691@gmail.com*

Особое место в эволюции и видообразовании орхидных играет явление гибридизации, при котором в природе возможно появление не только межвидовых, но и межродовых гибридов. Нередко такие гибриды являются жизнеспособными и, впоследствии, стабилизируются как самостоятельные таксоны, что существенно расширяет потенциальные эволюционные возможности семейства.

Цель данного исследования – анализ особенностей развития семян, полученных в результате гибридного скрещивания некоторых тубероидных орхидных из флоры России. Работа выполнялась на базе коллекции орхидных Ботанического сада ИББМ ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Объектом стали 8 видов тубероидных орхидных из 2 родов – *Dactylorhiza Neck.* ex Nevski и *Orchis* L. В ходе эксперимента было проведено искусственное опыление 800 цветков. Сформировавшиеся плоды, зрелые и незрелые семена изучались с помощью световой микроскопии на 15 и 30 дни после опыления. При этом измерялись такие морфометрические показатели, как длина и диаметр плода (на поперечном срезе в средней части), длина семени, оценивались доли полноценных (содержащих зародыш) и неполноценных семян в плоде.

Результаты исследований развития плодов и семян показывают относительно схожие темпы развития, однако, морфометрические показатели семян значительно варьируют у разных видов и их гибридов. Наибольшие различия параметра длины семени в сравнении с показателями контрольных внутривидовых скрещиваний характерны для гибридов *Dactylorhiza aristata* × *D. urvilleana* (283,59 ± 17,74 мкм), *D. aristata* × *D. incarnata* (242,66 ± 16,24 мкм), *D. fuchsii* × *D. incarnata* (347,37 ± 14,39 мкм), *Orchis militaris* × *Dactylorhiza urvilleana* (227,09 ± 17,81 мкм).

Анализ зародышей показал их жизнеспособность во всех семенах, за исключением межродового гибрида *Orchis militaris* × *D. traunsteineri*. У 60% образцов семян гибридного происхождения было выявлено более половины полноценных семян с развитым зародышем. Наименьшая доля полноценных гибридных семян была выявлена у *D. aristata* × *D. fuchsii* – 15%, *D. urvilleana* × *D. traunsteineri* – 15%, *D. aristata* × *D. traunsteineri* – 10%, и у межродовых гибридов с участием *Orchis militaris* – менее 15%

Таким образом, результаты эксперимента показывают высокую способность к межвидовой гибридизации внутри рода *Dactylorhiza* при искусственном опылении, что подтверждается образованием плодов и полноценных семян, имеющих высокую всхожесть. Полученные данные по гибридизации видов родов *Dactylorhiza* и *Orchis* указывают на значительные репродуктивные барьеры между ними, однако не полностью исключают возможность возникновения межродовых гибридов.

# ЭНТОМОФАУНА ООПТ «ГОРНОЕ ЗАДЕЛЬЕ»: РЕДКИЕ И ОХРАНЯЕМЫЕ ВИДЫ НАСЕКОМЫХ

***М. А. Прохорова***
Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*caputfollare@gmail.com*

Государственный природный комплексный заказник республиканского значения «Горное Заделье» располагается в Куженерском районе Республики Марий Эл. Создан 12.03.1997 года с целью охраны памятника народных промыслов (изготовление мельничных жерновов) «Нолькин камень», сохранения редких видов растений и животных. Площадь - 580,0 га. Энтомофауна изучалась в летний период 2022 г. на всей территории заказника «Горное Заделье» в рамках проведения работ по государственному контракту № 11/А/2022 «Оказание услуг по комплексному исследованию экологического состояния особо охраняемой природной территории».

В результате проведенных исследований выяснено, что фауна насекомых территории ООПТ «Горное Заделье» представлена 228 видами, которые относятся к 187 родам, 79 семействам и 13 отрядам. Больше всего видов (66), родов (57), семейств (17) в отряде Жесткокрылые. Из отряда Чешуекрылые определено 62 вида, из отряда Двукрылые – 34 вида, из отряда Перепончатокрылые – 20 видов, из отряда Полужесткокрылые – 18 видов, из отряда Стрекозы – 12 видов, из отряда Равнокрылые – 6 видов, из отряда Прямокрылые – 3 вида, из отряда Веснянки – 2 вида, из отрядов Ручейники, Скорпионницы, Сетчатокрылые, Уховертки, Поденки – по 1 виду.

Представители отряда Жесткокрылые составили 28,9% от общего видового состава. Отряд Чешуекрылые составляет 27,2% от общего списка видов. Представители отряда Двукрылые составили 14,9%. Остальные отряды составили от 0,4% до 8,8% от всего списка видов.

Максимальная встречаемость зарегистрирована у пчелы медоносной и цикадки зеленой. Бодушка горбатая, белянка брюквенная, оленка рябая, бронзовка золотистая, лептура чернозадая, клоп итальянский, люцерновый клоп, рыжий лесной муравей, пестрокрылка бодяковая имели встречаемость 50%. У остальных видов частота встречаемости составляла 33,3%.

Редкие виды животных ООПТ «Горное Заделье» со статусами в Красной книге животных Республики Марий Эл приведены ниже:

1. Красотка-девушка Calopteryx *virgo* (Linnaeus, 1758) - 3 – редкий вид.
2. Хвостоносец Махаон *Papilio machaon* (Linnaeus, 1758) - 5 – восстанавливаемый и восстанавливающийся вид.
3. Ификлид подалирий *Iphiclides spodalirius* (Linnaeus, 1758) - 3 - редкий вид.
4. Толстоголовка Палемон *Carterocephalus palaemon* (Pallas, 1771) - 3 – редкий вид.
5. Переливница большая *Apatura iris* (Linnaeus, 1758) - 3 – редкий вид.
6. Червонец непарный *Lycaena dispar* (Haworth, 1802) - 3 – редкий вид.
7. Шмелевидка скабиозовая *Hemaris (Haemorrhagia) tityus* (Linnaeus,1758) - 3 – редкий вид.
8. Буроглазка крупноглазая *Pararge achine* (Scopoli, 1763) - 3 – редкий вид.
9. Шмель пятнистоспинный *Bombus maculidorsis* (Skorikov, 1922) - 1 – вид, находящийся под угрозой исчезновения.
10. Жужелица блестящая *Carabus nitens* Linnaeus, 1758 - 3 – редкий вид.
11. Бронзовка мраморная

*Работа выполнена в рамках ГК №11/А/2022.*

# ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

***М. И. Пряжникова*, Н. И. Игнатова, И. Н. Дружкова**

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *masha.p21@mail.ru*

Осознание взаимосвязи изменений состава микробиома с возникновением заболеваний может послужить опорной точкой для поиска новых подходов к диагностике и лечению ряда патологий, в частности колоректального рака (КРР). Выдвигаются различные гипотезы относительно механизмов воздействия микробиома на клетки КРР, например, об увеличении пролиферативной активности клеток. Цель работы – исследовать влияние метаболитов *E. coli* на пролиферацию клеточной линии КРР HCT-116.

Материалом исследования послужили метаболиты 3 штаммов *Escherichia. coli*: M-17 – представитель нормобиоты, и штаммы Col-93 и Col-101, полученные от пациентов с КРР. Исследование проводилось на клеточной линии КРР HCT-116.

Для получения метаболитов бактерии культивировали в жидкой среде ДМЕМ в течение 18-24ч, затем фильтровали и использовали для экспериментов в разведении 1:1,5.

Пролиферацию оценивали с помощью анализа колониеобразования. Для этого клетки культивировали в 12-луночных планшетах (1000 кл/на лунку) с добавлением метаболитов. В качестве контроля использовалась среда без метаболитов. Через 7 дней клетки фиксировали, окрашивали генцианвиолетом, затем краситель экстрагировали и оценивали оптическую плотность на ридере.

Для определения молекулярных изменений в клетках КРР HCT-116 под действием метаболитов было проведено иммуноцитохимическое исследование (ИЦХ) с помощью антител к E-кадгерину и FAK, с последующим микроскопированием (Leica, Германия). Полученные данные анализировали с помощью методов непараметрической статистики в программе Statistica 10.0.

Показано статистически значимое увеличение пролиферации клеток КРР в присутствии метаболитов по сравнению с контролем ($p < 0,05$). По сравнению со штаммом *E. coli* M-17, метаболиты *E. coli* Col-93 и Col-101 активнее увеличивают пролиферацию клеток HCT-116 ($p < 0,05$).

ИЦХ анализ показал миграцию E-кадгерина в ядро клеток под действием метаболитов *E. coli*. Экспрессия FAK снижалась под действием метаболитов *E. coli* Col-101 по сравнению с контролем, и увеличивалась под действием штамма M-17.

Метаболиты *E. coli* усиливают пролиферацию клеток КРР HCT-116 по сравнению с контролем. Метаболиты штаммов *E. coli*, полученных от пациентов с колоректальным раком сильнее влияют на пролиферацию клеток КРР, что в свою очередь может способствовать прогрессии колоректального рака. Дислокация E-кадгерина в ядро клеток может являться одним из механизмов для облегчения миграции раковых клеток.

*Исследование выполнено при поддержке РНФ (проект № 23-74-00045).*

# РЕЖИМЫ ЗАХВАТА ФАЗЫ И РАСПОЗНАВАНИЕ БИНАРНЫХ ОБРАЗОВ В СЕТИ СПАЙКОВЫХ НЕЙРОНОВ

***Д. С. Пушкарев*[1], *С. Ю. Маковкин*[1], *И. А. Кастальский*[1–3]**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*dmitrij.pushckariov.2018@mail.ru*
[2]Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Московской обл., Институтский пер., 9
[3]Самарский государственный медицинский университет, 443001, Самара, ул. Арцыбушевская, 171

Изучение нелинейных процессов в системах мозга с позиций колебательно-волнового подхода в настоящее время является одним из актуальных направлений изучения механизмов генерации и обработки сигналов в мозге. Такие исследования могут помочь в реализации различных феноменов, таких как механизм ассоциативной памяти, на основе сетевых моделей биологически релевантных нейронов. В данной работе была предложена архитектура нейронной сети для решения прикладных задач: фильтрации сигналов, обработки и распознавания информационных образов. С помощью реализованных механизмов по неполным фрагментам можно извлекать и полностью восстанавливать объекты из памяти. Каждый нейрон такой нейронной сети представляет собой биофизическую модель Ходжкина-Хаксли, динамика которого наиболее приближенно воспроизводит процессы в живых клетках мозга.

При исследовании одиночных нейронов на них подавался постоянный внешний ток различной амплитуды. Были определены средние периоды автоколебаний, обнаружены значения параметров, соответствующие бифуркации Андронова-Хопфа. Было обнаружено, что динамика нейрона Ходжкина-Хаксли имеет гистерезис: при увеличении и уменьшении тока смещения устойчивый предельный цикл рождается и разрушается по разным сценариям. Устойчивый предельный цикл рождается через бифуркацию Андронова-Хопфа, а разрушается через седло-узловую бифуркацию на цикле.

Были выявлены области параметров, соответствующие синхронизации двух нейронов при возбуждающей и тормозной синаптической связи. Все нейроны находились в автоколебательном режиме с наличием устойчивого предельного цикла в фазовом пространстве.

Была построена трехслойная нейронная сеть, состоящая из опорного нейрона, сенсорных, контрольных и интернейронов. Связи контрольного и промежуточного слоя организованы по правилу Хебба. Были обнаружены области возбуждения для различных типов нейронов. С помощью построенной нейронной сети были проведены эксперименты по распознаванию бинарных информационных паттернов, кодируемых фазой сигнала. Образы в памяти кодировались с помощью распределения возбуждающих и тормозных синаптических связей. Динамически паттерны определяются синфазным или противофазным режимом захвата фазы (фазовой синхронизацией относительно глобального ритма). Перед попаданием на контрольный (выходной) слой нейронов сигналы суммируются на слое интернейронов с сигналом опорного нейрона, в результате чего фильтруется определенный информационный сегмент (синфазный или противофазный). После проведенной настройки параметров сеть правильно распознала паттерны.

Были найдены области фазовой синхронизации нейронов, используя которые можно управлять режимами активности сети. Была подтверждена возможность существования режимов захвата фазы и распознавания образов с помощью нейронов Ходжкина-Хаксли.

# ВЛИЯНИЕ НОКДАУНА 5-НТ4 РЕЦЕПТОРА В ГИППОКАМПЕ НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ

***Н. С. Радченко***
Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*radchenko-nikita2001@yandex.ru*

Серотониновый рецептор 4 подтипа (5-НТ4) высоко экспрессируется во многих областях мозга, связанных с настроением и тревогой. Активация данного типа рецепторов имеет антиамнестический эффект. Большинство исследований in vivo, посвященных изучению функции 5-НТ4 рецепторов, основывались на системных фармакологических подходах или конститутивной делеции. Поэтому изучение локальной роли 5-НТ4 подтипа в конкретной структуре мозга будет способствовать лучшему пониманию их функции. Цель работы — оценка эффектов нокдауна 5-НТ4 рецепторов в гиппокампе на поведение взрослых мышей линии C57Bl/6. Мы разработали аденоассоциированный вирусный конструкт pAAV-Syn(0.5)-EGFP-H1-2-shRNA-HTR4, который кодирует shRNA, способную снизить экспрессию гена целевого рецептора (Htr4). Вирусный конструкт доставляли в гиппокамп путем инъекции вирусных частиц в ткань. Вирусные частицы были предварительно наработаны в клетках линии HEK293-FT. Поведение изучали в тестах «открытое поле» (ОП), «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «подвешивание за хвост» (ПЗХ), «водный лабиринт Морриса» (ВЛМ). Подавление экспрессии гена определяли при помощи ПЦР в реальном времени.

Подавление экспрессии при помощи shRNA привело к значимому снижению уровня мРНК 5-НТ4 в гиппокампе ($p=0,009$). В тесте ОП нокдаун гена Htr4 привел к увеличению исследовательской и двигательной активности: увеличены исследованная площадь арены ($p=0,001$) и пройденный путь ($p=0,0004$). У опытной группы снижено латентное ($p=0,038$) и суммарное время груминга ($p=0,028$), что указывает на уменьшение тревожности. Так же тенденция к уменьшению уровня тревожности выявлена в тесте ПКЛ: опытные животные проводили больше времени в открытых рукавах лабиринта ($p=0,059$). В тесте ПЗХ опытные и контрольные животные демонстрировали схожие показатели поведенческой беспомощности ($p=0,947$). В тесте ВЛМ вероятность нахождения опытных животных в целевом секторе не отличалась от случайной ($p=0,176$), что говорит о худшем формировании пространственной памяти у опытных животных.

Полученные результаты свидетельствуют о вкладе 5-НТ4 рецептора в регуляцию тревожно-подобного поведения и процессов памяти у мышей.

*Работа поддержана РНФ (грант № 22-15-00011).*

# ОБРАБОТКА НИЗКИМ PH, ГЕМИНОМ И ИОНАМИ ЖЕЛЕЗА НЕ ВЛИЯЕТ НА СПОСОБНОСТЬ СЫВОРОТОЧНОГО IGA ВЫЗЫВАТЬ РЕСПИРАТОРНЫЙ ВЗРЫВ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ФАГОЦИТОЗЕ E.COLI

***Е. А. Раззоренова*, Т. С. Чурина, Е. Н. Горшкова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*elizavetarazzorenova1966@yandex.ru*

Нейтрофилы являются важной составляющей врожденной иммунной системы. Являясь превалирующими лейкоцитами в крови человека, они демонстрируют быструю и эффективную реакцию на вторгающиеся патогены, чем обеспечивают переднюю линию защиты от бактериальных инфекций. Их эффекторная функция реализуется в первую очередь за счет активного фагоцитоза, инициация которого требует покрытия фагоцитируемого объекта опсонинами, например, иммуноглобулинами. В процессе фагоцитоза в нейтрофилах реализуется функциональный ответ – респираторный взрыв, в ходе которого активируются механизмы продукции активных форм кислорода (АФК). Эти продукты обладают выраженным антимикробным действием, но, в то же время, могут вызывать повреждения окружающих тканей и апоптоз других иммунореактивных клеток.

Ранее мы изучили влияние низкого pH, гемина и ионов Fe(II) на опсоническую функцию IgA в ходе фагоцитоза нейтрофилами клеток *Escherichia coli* и показали разнонаправленный эффект этих модификаций. В исследовании фагоцитоза большое значение имеет определение продукции нейтрофилами АФК, которая характеризует эффективность элиминации фагоцитируемого материала. Таким образом, целью данной работы явилось исследование продукции активных форм кислорода нейтрофилами в процессе фагоцитоза клеток *E. coli*, опсонизированных модифицированным низким pH, гемином или ионами Fe(II) сывороточным IgA.

В ходе работы сывороточный IgA человека (5 мг/мл), выделенный из комплексного иммуноглобулинового препарата (КИП, Микроген, Россия), обрабатывали 0,2 М глициновым буфером (pH 2,6) (10 мин, комн. темп.), гемином в молярном соотношении 1:10 (30 мин, 4°C) или 20 мМ раствором сульфата железа (1 ч, 4°C). Конечная концентрация IgA составляла 2,5 мг/мл. Нейтрофилы выделяли из периферической крови в градиенте фиколл-урографина и стимулировали с помощью TNF-α (25 нг/мл на $1 \cdot 10^6$ кл/мл) и LPS (100 нг/мл на 1·106 кл/мл). Лейкоциты инкубировали (20 мин) с чувствительным к окислению дигидродамином-123 (1 мкМ, Sigma-Aldrich, США), а затем (1 час, 37°C) с инактивированными нагреванием FITC-меченными клетками *E. coli* ($1 \cdot 10^8$ кл/мл), предварительно опсонизированными (30 мин, 37°C) нативным или модифицированным IgA. Измерение уровня флуоресценции дигидродамина определяли с помощью проточной цитометрии каждые 10 минут. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием критерия Краскала-Уоллиса. Значение $p<0,05$ считалось статистически значимым.

В ходе работы было показано, что обработка сывороточного IgA низким pH, гемином или ионами Fe(II) не влияет на его способность стимулировать продукцию активных форм кислорода.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ В ЗАДАЧАХ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПО ЭКГ НА НАБОРЕ ДАННЫХ PTB-XL

***В. В. Разин*, *А. А. Краснов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*razinvyacheslav@yandex.ru*

Диагностика по электрокардиограмме (ЭКГ) является крайне актуальной и важной задачей, от качества, своевременности и скорости проведения которой зависят жизни и здоровье людей. В рамках статьи исследуется возможность применения различных методов глубокого обучения как универсального инструмента для решения задачи при определении патологических сигналов ЭКГ с маркерами инфаркта миокарда, гипертрофии, нарушением проводимости и изменении морфологии ST сегмента. За последние несколько лет совершен значительный прогресс в сфере автоматизации диагностики по ЭКГ, на ряде подзадач компьютер уже превзошел кардиологов в их решении, а также проводится большое количество исследований в этой сфере. Обычно наборы данных ЭКГ очень малы, но не в случае набора данных PTB-XL, размещенном PhysioNet. В рамках данной работы на этом наборе данных решается задача диагностики электрокардиограммы классификации основных подклассов диагнозов с использованием глубокого обучения. Для сравнительного анализа различных алгоритмов классификации данная работа основана на алгоритмах, которые работают с необработанными многомерными данными временных рядов. В качестве метрик оценки моделей классификации глубокого обучения было отдано предпочтение метрикам AUC и F1. При схожих результатах лучшей (по предсказательной способности) моделью является комбинация сверточной и рекуррентной сетей. Нормализация средним, разработанное распределение данных на обучающую и проверочную выборки, использование функций обратного вызова, а также составление ансамблей позволяет достигать наибольшей предсказательной способности моделей. Веса обученных моделей можно использовать для обучения на меньших наборах данных путем переноса обучения, а также извлекать из сетей необходимые признаки для моделей машинного обучения.

# ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ С ПОМОЩЬЮ ОДНОВРЕМЕННОЙ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ GPX3 И SOD3

***Е. Е. Расова*[1], *М. М. Тавлеева*[1], *Е. С. Белых*[1], *А. В. Рыбак*[1], *А. А. Черных*[2], *И. О. Велегжанинов*[1]**

Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; *elrasova@mail.ru*

[2]Институт физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Первомайская, 50

Окислительный стресс является одним из основных видов клеточного стресса и определяющим фактором в развитии и прогрессировании многих заболеваний. Одним из перспективных подходов к предотвращению негативных последствий окислительного стресса представляется транскрипционная регуляция клеточной стрессоустойчивости посредством сверхактивации генов антиоксидантной защиты в рациональных комбинациях. Технология CRISPRa, с помощью которой данный подход приобрел особую актуальность, позволяет одновременно сверхактивировать комбинации собственных генов клетки, не нарушая хромосомный контекст. Нами были систематизированы результаты 166 исследований эффектов увеличения экспрессии генов антиоксидантной защиты в культурах клеток и организмах, подверженных окислительному стрессу различной природы. На основании данного анализа была выдвинута гипотеза о том, что наиболее эффективной и безопасной является комбинированная сверхэкспрессия генов GPX3 и SOD3 с позиции как повышения клеточной стрессоустойчивости, так и во избежание избыточного производства H2O2 в клетке. Целью экспериментального исследования была оценка влияния сверхэкспрессии генов SOD3 и GPX3 на устойчивость клеток к окислительному стрессу, вызванному ионизирующим излучением и воздействием параквата. С помощью CRISPRa-технологии была осуществлена раздельная и одновременная сверхактивация генов SOD3 и GPX3 в клетках эмбриональной почки человека Hek293T в 843-954 и 22-36 раз соответственно. Культуры клеток на фоне сверхэкспрессии SOD3 и GPX3 подвергали воздействию γ-излучения в дозах 2, 3 и 5 Гр, а также параквата в концентрациях 10, 20, 30 и 40 μM. Выживаемость клеток оценивали с помощью флуориметрического анализа цитотоксичности в микрокультурах (FMCA). Было показано, что при облучении во всех дозах, а также при воздействии параквата во всех концентрациях, выживаемость клеток с одновременной сверхэкспрессией генов SOD3 и GPX3 достоверно возрастала в сравнении с контрольными клетками без сверхактивации и клетками, в которых сверхактивировали лишь один из двух генов. Полученный нами результат в совокупности с данными о преимущественно онкосупрессорном эффекте сверхэкспрессии каждого из этих генов, дает право предположить о наличии прикладного потенциала одновременной сверхактивации генов SOD3 и GPX3.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-24-01042).*

# АНАЛИЗ МОДЕЛИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНОМ И СВЕТОВОМ СТРЕССЕ

***Д. А. Ратницына*, *Е. М. Сухова*, *В. С. Сухов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*Dasha-lola1997@mail.ru*

Фотосинтез представляет из себя сложный биофизический и биохимический процесс, подверженный негативному влиянию неблагоприятных внешних факторов. Такое влияние может снижать скорость фотосинтеза и приводить к снижению продукции биомассы. Действие неоптимальных температур и избыточного освещения является одним из ключевых стрессоров, влияющих на фотосинтез. Исследование такого влияния методом математического моделирования было основной целью нашей работы.

В ходе работы была разработана математическая модель фотосинтеза, опирающаяся на модель Farquhar-Von Caemmerer Berry (FvCB). Модель FvCB описывает темновые реакции фотосинтеза, а также упрощенно моделирует реакции световой стадии. Помимо модели FvCB, наша модель включала в себе блок, описывающий повреждение фотосинтетического аппарата избыточным освещением и зависимость активности фотосинтетических процессов от температуры. Для параметризации и верификации модели использовались экспериментальные данные, полученные на двухнедельных проростках гороха посевного. Для измерения фотосинтетической активности использовали второй сформировавшийся лист. Происходила одновременная регистрация параметров световой стадии и темновой стадии, с использованием PAM-флуориметра Dual-PAM-100 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany) и газоанализатора GFS-3000 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany). Интеграция обоих блоков осуществлялась с помощью измерительной головки Cuvette 3010-Dual (Heinz Walz GmbH), обеспечивающей поддержание заданной температуры. В исследовании использовался синий актиничный свет с интенсивностью от 108 до 758 мкмоль $м^{-2}с^{-1}$. В ходе анализа модели было показано, что фотоповреждение развивается даже при низкой интенсивности света, что согласуется с экспериментальными данными, и возрастает при увеличении его интенсивности. Анализ влияния температурного фактора показал, что неоптимальные температуры приводят к возрастанию фотоповреждения фотосинтетического аппараты, имитированному моделью. В то же время, модель показывает парадоксальное снижение фотоповреждения фотосинтетического аппарата после достижения определенной критической температуры в ходе имитации нагрева.

Такой эффект, по-видимому, связан с разной скоростью подавления световых и темновых реакций в ходе повышения температуры. Учитывая чувствительность устьиц к действию температурного фактора, эффекты были исследованы при с сниженой устьичной проводимости. Модель показывала уменьшение фотосинтетической активности, однако выявленные зависимости фотоповреждения от температуры качественно не менялись. В целом, разработанная модель прогнозирует наличие «парадоксальной» зависимости повреждения фотосинтетического аппарата от температуры.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 17-76-20032).*

# СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА УСТЬЕВОГО УЧАСТКА РЕКИ ОКИ

***А. А. Ревухин*[1, 2], *В. С. Жихарев*[2], *Д. Е. Гаврилко*[2], *Д. И. Постнов*[1], *Г. В. Шурганова*[2]**
[1]Нижегородский филиал ВНИРО, 603116, Нижний Новгород, Московское ш., 31;
*cahek19981110@gmail.com*
[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Река Ока – крупный правый приток речной части Чебоксарского водохранилища. Река загрязнена сбросами промышленных, коммунально-бытовых и других сточных вод, транзитно поступающих к устьевому участку с территории Московской, Калужской, Тульской, Рязанской, Владимирской и Нижегородской областей. Воды р. Оки являются наиболее загрязненными и эвтрофированными среди водных объектов Средней Волги. Наряду с этим, устьевой участок р. Оки является основным источником водоснабжения г. Нижний Новгород.

Одну из ключевых ролей в гидроэкосистемах играет зоопланктон, участвующий в процессе самоочищения водоемов, являющийся индикатором качества вод, служащий кормовой базой рыб-планктофагов и молоди многих видов рыб. Вместе с тем, информация о структуре сообществ гидробионтов и закономерностях их пространственного распределения в устьевом участке р. Оки недостаточна.

Целью работы является анализ современного состояния сообществ зоопланктона медиальной части р. Оки на устьевом участке (у Молитовского и Канавинского мостов), в нижнем течении р. Оки у г.Павлово, а также в затонах (Ефремовском, Дуденевском), заливе у Желнино, являющихся местами нереста и откорма рыб. Исследования проводились в период летней межени 2019–2022 гг. Отбор и обработка проб осуществлялись общепринятыми в практике гидробиологических исследований методами.

По результатам четырехлетних исследований в зоопланктоне устьевого участка р. Оки выявлено, что большинство видов относится к широко распространенным в водоемах и водотоках Европейской части России. Наибольшие видовое богатство и численность зоопланктона были зарегистрированы среди коловраток. Зоопланктоценоз медиальной части реки характеризовался доминированием коловратки *Brachionus calyciflorus*. Субдоминантом являлась коловратка *B. angularis.* Преобладание коловраток семейства Brachionidae свидетельствует об органическом загрязнении вод р.Оки. Второе место по численности занимали веслоногие ракообразные, преимущественно, пелагический хищный инвазийный вид *Acanthocyclops americanus* и младшие возрастные стадии веслоногих ракообразных. Доля ветвистоусых не превышала 7%.

В отличие от медиальной зоны реки зоопланктон всех обследованных затонов характеризовался преобладанием ракообразных: *Diaphanosoma brachiurum, Sida crystallina*, являющимися хорошими фильтраторами, а также коловратки *Asplanchna priodonta*. Количественные показатели развития зоопланктона в затонах и заливах были выше, чем в медиальной части реки.

Полученные данные в дальнейшем могут быть использованы для оценки кормовой базы рыб, качества воды обследованных водных объектов и их способности к самоочищению, поскольку организмы зоопланктона являются активными фильтраторами водных масс.

# СВЯЗЬ МЕЖДУ СКОРОСТЬЮ РОСТА АСЦИТИЧЕСКОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА, ВЫРАЩИВАЕМОЙ МЫШАМИ, И ПОКАЗАТЕЛЯМИ СТАТУСА МЕДИ В ИХ КРОВИ, МОДУЛИРУЕМЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА

***В. Е. Рекина*[1], *Д. Н. Магазенкова*[1, 2], *З. М. Жассем*[2]**

[1]Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29; *rekinavaleria@gmail.com*

[2]Национальный исследовательский университет ИТМО, 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9

Современная концепция противоопухолевой терапии как перспективное направление рассматривает блокирование доставки меди (Cu) к клеткам опухолей. Концепция основывается на том, что Cu необходима для неоваскуляризации, пролиферации и метастазирования (Ge et al., 2022). Хелаторы, разрешенные FDA, связывая Cu, экстрагируют ее из жизненно важных купроэнзимов и вызывает тяжелые побочные эффекты. Альтернативно, мы предлагаем снижать уровень церулоплазмина (ЦП), донора меди для опухолей, с помощью наночастиц серебра (AgNPs). Предложение основано на том, что ионы $Cu^{1+}$ и $Ag^{1+}$ изоэлектронны, поэтому Ag узнается Cu-транспортерами, поступает в систему метаболизма меди и может быть встроена в купроэнзимы, если их координационные сферы содержат Cys. У млекопитающих к таким купроэнзимам относятся только мультимедные оксидазы, одной из которых является ЦП. Внутрибрюшинные (в/б) инъекции AgNPs приводят к включению Ag в ЦП. В результате ЦП теряет Cu, которую он передает в клетки. Целью данной работы было изучение влияния AgNPs на развитие асцитической карциномы Эрлиха (АКЭ). Использованы AgNPs, полученные восстановлением $AgNO_3$ гидразин гидратом в присутствии олеата калия в качестве стабилизатора. По данным ТЭМ, UV/vis спектрометрии, EDX, RDX и ААС препарат содержал только кристаллическое Ag в виде 30 нм сферических частиц. Были сформированы 4 группы мышей линии BALB/c (n=13): (1) мыши с перевитой АКЭ (~$10^6$клеток на животное), (2) мыши, получавшие AgNPs (~2 мг/кг массы тела) 7 дней до инокуляции клеток АКЭ и отмененные сразу после перевивки клеток, (3) мыши с перевитой АКЭ, получавшие AgNPs 7 дней до перевивки опухоли и все последующие дни эксперимента, (4) мыши, получавшие AgNPs одновременно с инокуляцией клеток АКЭ. Контрольные группы состояли из интактных мышей и мышей, получавших AgNPs. Через 11 дней после перевивки АКЭ у трех мышей из каждой группы были взяты образцы печени, крови и асцитной жидкости. Остальные животные были использованы для определения выживаемости.

У мышей группы 2 опухоли росли быстрее, по сравнению с группой 1. Мыши группы 3 не отличались по выживаемости от мышей группы 1. Мыши, получавшие AgNPs одновременно с перевивкой клеток (группа 4), выживали лучше, по сравнению с мышами группы 1. Дальнейшее сравнение проводили между группами 1 и 4. Развитие АКЭ повышало уровень ЦП и оксидазной активности в сыворотке крови, введение AgNPs снижало активность, ЦП до нуля. В печени мышей, выращивающих АКЭ, активность генов метаболизма Cu DMT1, ATOX1, Cp и MT1, а также генов Cu-регулируемых факторов LOXP и TNFa повышалась. Введение AgNPs способствовало снижению экспрессии генов LOXP и TNFa. В клетках АКЭ AgNPs достоверно снижали экспрессию генов HIF1α, TNFa и VEGFa.

Обсуждается эффективность AgNPs как «хелаторов» меди на развитие АКЭ.

*Работа поддержана грантом РНФ № 20-74-10087.*

# ПОИСК НОВЫХ КРИТЕРИЕВ СНИЖЕНИЯ РЕГЕНЕРАТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

***С. А. Родимова*[1, 2], *Н. В. Бобров*[1, 3], *Д. П. Крылов*[1, 2], *Д. С. Козлов*[1, 2], *И. Д. Щечкин*[1, 2], *А. М. Можеров*[1, 2], *В. Е. Загайнов*[1, 4], *Е. В. Загайнова*[1, 2], *Д. С. Кузнецова*[1, 2]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *srodimova123@gmail.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

[3]Приволжский окружной медицинский центр, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 41А

[4]Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, 603126, Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1

Хирургическая резекция печени остается наиболее эффективным методом лечения необратимых очаговых заболеваний печени. Однако при наличии сопутствующих печеночных патологий регенераторный потенциал печени значительно снижается. Стандартные клинические методы не позволяют прогнозировать функцию оставшейся после резекции печени. Современные label-free методы мультифотонной микроскопии с режимами время-разрешенной микроскопии (FLIM) и генерации второй оптической гармоники (ГВГ) расширяют возможности изучения структурно-функционального состояния ткани печени на клеточном уровне. Таким образом, актуальной задачей остается поиск критериев для проведения интраоперационной экспресс оценки регенераторного потенциала печени при наличии сопутствующих печеночных патологий.

Серии экспериментов проводились на крысах линии Wistar. Индукцию фиброза проводили путем внутрибрюшинного введения 33% $CCl_4$ два раза в неделю в течение 8 недель. Стеатоз индуцировали путем перевода животных на высокожировую диету (60% жира от общего рациона) в течение 12 недель. На разных этапах патологии проводили индукцию регенерации печени путем 70% гепатэктомии (ГЭ). Анализ структуры ткани печени проводили методом мультифотонной микроскопии на 3 и 7 дней после ГЭ. С применением FLIM определяли вклады времен жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАДН и НАДФН. В качестве контроля проводили морфологический анализ и стандартный биохимический анализ крови.

В результате были выявлены особенности структурно-функционального состояния на разных этапах регенерации при наличии стеатоза и фиброза. При стеатозе были выявлены зоны со сниженным сигналом автофлуоресценции НАДН, соответствующие очагам липидной инфильтрации или фиброзирования. Также показано снижение вкладов связанной формы НАДН и НАДФН уже на ранних этапах стеатоза. При регенерации на фоне стеатоза не наблюдалось резкого увеличения вкладов связанной формы НАДН и НАДФН на 3 сутки после резекции, которое было обнаружено при нормальной регенерации. Это может быть следствием митохондриальной дисфункции гепатоцитов. При фиброзе выявлены зоны со сниженным сигналом автофлуоресценции НАДН, которые соответствовали только зонам фиброзирования. Также показано резкое снижение вкладов связанной формы НАДН и НАДФН на ранних этапах патологии с последующим повышением данных параметров на поздних этапах. Такие изменения связаны с митохондриальной дисфункцией на ранних стадиях и прогрессированием компенсаторных процессов на поздних этапах патологии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 23-25-00100.*

# ОЦЕНКА РОЛИ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ IFITM1 И IFITM3 В ФОРМИРОВАНИИ РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК HEK293T

***А. В. Рыбак*, И. О. Велегжанинов, Е. С. Белых**
Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28; *canewa.anuta@yandex.ru*

Во многих типах раковых клеток наблюдается сверхэкспрессия генов интерферон-индуцированных трансмембранных белков IFITM1 и IFITM3, в норме имеющих противовирусную активность, а в опухоли способствующих прогрессированию и метастазированию. Выполненный нами анализ результатов 101 сравнительного исследования (123 пар или групп сравнения) транскриптомов чувствительных и устойчивых к генотоксическим воздействиям опухолевых клеток человека показывает, что IFITM1 и функционально связанные с ним гены обнаруживаются в числе наиболее часто сверхэкспрессирующихся в клетках с повышенной устойчивостью к радиации и препаратам платины. Механизм, который бы объяснял данное наблюдение, до сих пор неизвестен.

Целью работы являлась оценка влияния сверхэкспрессии генов IFITM1 и IFITM3 на радиоустойчивость клеток HEK293T.

С помощью трансфекции клеток плазмидами, кодирующими мутантную нуклеазу dCas9 сшитую с активатором транскрипции VPH и гидовые РНК к промоторам генов IFITM1 и IFITM3, была достигнута сильная (от 40- до 234-кратная) транзиентная раздельная и одновременная сверхэкспрессия генов. Контрольные клетки и клетки со сверхэкспрессией подвергали острому воздействию γ-излучения в дозах 2, 3 и 5 Гр. С помощью флуориметрического анализа цитотоксичности в микрокультурах (FMCA) показано, что клетки со сверхэкспрессией гена IFITM1 лучше выживают после воздействия в этих дозах, в сравнении с контролем. Сверхэкспрессия гена IFITM3 и одновременная сверхэкспрессия генов IFITM1 и IFITM3 не приводили к такому эффекту.

Так как метод FMCA не позволяет разделить вклад в выживаемость микрокультуры собственно выживаемости и пролиферации выживших клеток, мы дополнительно выполнили анализ формирования колоний и посчитали долю колониеобразующих единиц и размер сформированных колоний. Результаты свидетельствуют, что после облучения в дозе 3 Гр выживаемость выше как у клеток со сверхэкспрессией IFITM1, так и у клеток с одновременной сверхэкспрессией генов IFITM1 и IFITM3. Аналогичная тенденция наблюдается после облучения в дозе 2 Гр. Пролиферация клеток оказалась практически одинаковой (и сниженной относительно необлучённых клеток) после облучения. Без воздействия ионизирующего излучения клетки с раздельной и одновременной сверхэкспрессией IFITM1 и IFITM3 пролиферировали медленнее клеток, трансфецированныхплазмидами, не несущими гидовые РНК.

Таким образом, впервые экспериментально показано, что сверхэкспрессия гена IFITM1 не просто сопровождает формирование радиационной устойчивости клеток, но является и одной из причин формирования устойчивости. В работе предложен новый механизм формирования радиоустойчивости, основанный на IFITM1-зависимом ограничении экзосомальной коммуникации между клетками.

*Исследование выполнено на базе ЦКП «Молекулярная биология» в рамках государственного задания ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (№ 122040600024-5).*

# ВЛИЯНИЕ СОСТАВА И КОНЦЕНТРАЦИИ ФИТОГОРМОНОВ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА РОСТ СУСПЕНЗИОННЫХ КЛЕТОК *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. И ПРОДУКЦИЮ ИМИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

***Д. А. Рыбин, А. А. Исмаилова, М. В. Ларина, Е. В. Березина, А. А. Брилкина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*ivan.rybin.1990@mail.ru*

Суспензионные культуры вересковых являются удобными объектами для получения ценных фенольных соединений. Однако суспензии голубики щитковой (*Vaccinium corymbosum*), обладающие ценными биофлавонолами на данный момент слабо изучены, поэтому имеют актуальность для масштабных исследований. Одним из важных факторов, существенно влияющих на клеточные суспензии, является наличие в питательной среде регуляторов роста - фитогормонов. Целью работы являлось выявление оптимального состава и концентрации фитогормонов в питательной среде для роста клеточной суспензии голубики щитковой и синтеза ими фенольных соединений.

Суспензионные культуры *Vaccinium corymbosum* были получены из листовых каллусов, индуцированных из растений, размножаемых *in vitro*. Инициацию суспензий проводили на питательной среде WPM с различными фитогормонами: только 2,4-Д или НУК, 2,4-Д с БАП или НУК с БАП, с концентрациями по 0,5 мг/л, 1 мг/л, 1.5 мг/л. Выращивание культур проводили на свету с периодом 16 ч свет, 8 ч темнота, на орбитальных шейкерах с радиусом вращения 2 см и скоростью вращения 120 об/мин в течение 16 дней. По окончании цикла культивирования проводили анализ массы и жизнеспособности клеток, а также и уровня катехинов и проантоцианидинов.

Наиболее оптимальной концентрацией фитогормонов для роста числа клеток (до в 25 раз), увеличения массы и накопления катехинов (13 мг/г сырой массы) и процианидинов (6,8 мг/г сырой массы) оказалась концентрация 0,5/0,5 мг/л. В случае увеличения концентрации фитогормонов (2,4-Д/БАП) до 1/1 или 1,5/1,5 мг/л происходило снижение как количества и массы клеток, так и фенольных соединений, Исключение цитокинина БАП из питательной среды также негативно влияло на ростовые параметры суспензионных культуры голубики: происходило падение числа живых клеток более чем в 2 раза; снижалась более чем в 3 раза сырая масса и в 1,5 раза сухая, также происходило резкое уменьшение катехинов и процианидинов (в 4 и 3 раза соответственно).

В случае замены 2,4-Д на НУК не происходило значимого изменения в количестве клеток и накопления массы, но отмечалось увеличение содержания в клетках голубики щитковой фенольных соединений, содержание катехинов достигало 22 мг/л, процианидинов – 15 мг/л.

Таким образом, для эффективного получения катехинов и процианидинов с помощью суспензионных клеток голубики щитковой целесообразно использовать ауксины 2,4-Д или НУК в сочетании с БАП в концентрации не превышающей по 0,5 мг/л.

*Работа поддержана грантом РНФ, соглашение 23-24-00403.*

# МЕЖВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА АМФИБИЙ В СХОДНЫХ ГИДРОХИМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

***Е. С. Рябинина*, *Е. Б. Романова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*Ryabinina.E.S@yandex.ru*

При значительном объеме исследований по изучения системы крови амфибий практически отсутствуют сведения по сравнительному анализу основных биомаркеров хромосомной нестабильности (микроядер) близкородственных видов, обитающих на антропогенно-трансформированных территориях. Цель работы: дифференцированная оценка видов микроядер в эритроцитах периферической крови озерных и прудовых лягушек, обитающих в сходных гидрохимических условиях среды.

Материалом работы служили сборы озерных (20 особей, оз. Силикатное, 2020) и прудовых (28 особей, оз. Вторчермет, 2020, 2021) лягушек двух водоемов заречной части г. Нижнего Новгорода. В пробах воды определены основные химические загрязнители и произведен расчет удельного комбинаторного индекса загрязненности воды (УКИЗВ). В обоих водоемах зафиксировано превышение железа (1.3 ПДК), марганца (30–60 ПДК), меди (15.5–90 ПДК), хрома (2–4.9 ПДК), нитритов (10.3–24.3 ПДК), цинка (4–39 ПДК), кобальта (1.6 ПДК), свинца (1.5 ПДК). Качество воды исследованных водных объектов, определенное по УКИЗВ, было сходным и соответствовало IV классу, грязная, разряд «а». У всех собранных особей общепринятым методом определяли содержание эритроцитов и лейкоцитов (тыс/мм3). Для выявления мутагенной активности водной среды использовали микроядерный тест. При дифференцировке микроядер выделяли оформленные, прикрепленные, палочковидные и разрыхленные типы. Статистический анализ проводили непараметрическим критерием Манна-Уитни. За величину уровня значимости принимали $\alpha=0,05$.

Сравнительный анализ гематологических и цитогенетических показателей озерных и прудовых лягушек, обитающих в качественно сходных гидрохимических условиях обитания, выявил межвидовые различия в содержании эритроцитов ($U=2.00$; $p=0.045$) и лейкоцитов ($U=3.24$; $p=0.001$). Так, у прудовых лягушек установлено значимое уменьшение количества эритроцитов (Me 331.75; IQR 75.25) по сравнению с озерными (Me 388.0; IQR 126.5). Напротив, содержание лейкоцитов в периферической крови прудовых лягушек (Me 70.53; IQR 35) было значительное выше ($U=3.24$; $p=0.001$), чем у озерных (Me 32.25; IQR 17.5). На фоне активации эритропоэза у озерных лягушек, выявлена более высокая частота встречаемости эритроцитов с микроядрами ($U=1.98$; $p=0.046$). Наибольший вклад вносили микроядра прикреплённого типа (Me 33.5; IQR 23). Доля микроядер разрыхленного и палочковидного типов в эритроцитах крови обоих видов не различалась. Полученные результаты свидетельствуют о генотоксическом загрязнении водных объектов заречной части г. Нижнего Новгорода.

Таким образом, у озерных лягушек отмечено повышение активности эритропоэза, снижение содержания лейкоцитов и высокая доля микроядер в нормохроматофильных эритроцитах, иллюстрирующая более выраженное нарушение цитогенетического гомеостаза по сравнению с прудовыми.

# ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ТИОТЕРПЕНОИДА

***М. О. Сабанцев*[1], *Е. Ю. Тризна*[1], *Э. Р. Гильфанов*[2], *Е. М. Колесникова*[2], *Л. Е. Никитина*[2], *А. Р. Каюмов*[1]**

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *msabantsev@yandex.ru*

[2]Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

*Candida albicans* является дрожжеподобным грибком, вызывающим кандидозы – оппортунистические инфекции человека. В норме *C. albicans* является нормальной составляющей человеческой микробиоты и обитает на коже и слизистых человека, не причиняя вреда, однако при снижении иммунитета микроорганизм способен вызывать кандидоз, в том числе инвазионный (кандиедемия). В связи с быстрым развитием резистентности к известным противогрибковым препаратам ВОЗ внесла *C. albicans* в список 19 грибных патогенов, представляющих наибольшую опасность для общественного здравоохранения. С другой стороны, грибковые инфекции зачастую имеют смешанную природу и в сообществе присутствуют условно-патогенные бактерии. Поэтому поиск препаратов, обладающих широким спектром активности как в отношении грибов, так и бактерий представляет актуальную задачу для современной фармацевтической индустрии.

Перспективным направлением в лечении любых инфекций является применение комбинированной терапии с использованием мембранотропных агентов, позволяющих изменить свойства мембран и усилить действие стандартной терапии. В сотрудничестве с коллегами из Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН был разработан препарат под кодовым названием KS-1 (Kazan-Syktyvkar-1) и была проведена оценка его противомикробной активности, а также проведена оценка сочетанного действия препарата с наиболее распространенными противогрибковыми и антибактериальными препаратами.

Антимикробную активность KS-1 оценивали в отношении клинических изолятов *C. albicans*, а также в отношении бактерий *Escherichia coli, Serratia marcescens, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecalis, Micrococcus luteus, Staphylococcus epidermidis* и *Klebsiella pneumoniae*. Показано, что KS-1 обладал активностью в отношении 9 исследуемых штаммов *C. albicans*, для которых МПК определялась в диапазоне 128-256 мкг/мл, в отношении всех исследуемых бактерий МПК также варьировал в пределах 128-256 мкг/мл.

Среди 5 исследуемых штаммов *C. albicans* в отношении двух было показано наличие синергизма с флуконазолом, значение иФИК составило 0,25 для штамма *C. albicans* 4940 и 0,27 в отношении штамма *C. albicans* 701. Исследование взаимодействия KS1 с хлоридом бензалкония показало наличие аддитивного эффекта в отношении всех исследуемых штаммов *C. albicans*, так как при комбинировании соединений значение иФИК варьировало от 0,625 до 0,75.

Таким образом полученные данные свидетельствуют об антимикробной активности препарата KS-1 в отношении различных штаммов *C. albicans*, а также наличии синергизма между KS-1 и флуконазолом, что является многообещающим результатом для комбинированной терапии кандидозов. Показанное антибактериальное действие KS-1 характеризует его как универсальный противомикробный препарат, применимый при инфекциях смешанной природы.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №20-64-47014).*

# АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ RS13207327 ГЕНА DACT2 И RS6004423 ГЕНА KIAA1671 С РАЗВИТИЕМ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ИНДИВИДОВ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

***О. Н. Савельева*[1], *А. С. Карунас*[2], *А. О. Власова*[1], *Э. К. Хуснутдинова*[1, 2]**

[1]Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа, просп. Октября 71-Е;
*olyasavelie@yandex.ru*

[2]Башкирский государственный медицинский университет, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

Аллергические заболевания (АЗ) представляют собой группу распространенных патологий и являются одной из важнейших проблем практического здравоохранения. АЗ характеризуются сложной природой, взаимодействие генетических и экологических факторов обусловливает их обширную фенотипическую гетерогенность. Бронхиальная астма (БА), аллергический ринит (АР) и атопический дерматит (АД) – наиболее распространенные заболевания атопической триады. Целью данной работы явился анализ ассоциаций полиморфных вариантов rs13207327 гена DACT2 и rs6004423 гена KIAA1671 с развитием сочетанных форм аллергопатологий у индивидов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности из Республики Башкортостан (РБ).

Выделение ДНК из крови проведено методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование выполнено методом ПЦР в реальном времени. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 188 больных с сочетанными проявлениями АЗ (русские – 34, татары – 59, башкиры – 28, метисы – 67) и 190 практически здоровых индивидов (русские – 73, татары – 49, башкиры – 30, метисы – 38) в возрасте от 2 до 67 лет. Выборка пациентов с сочетанными АЗ включает группу больных БА с сопутствующим АР и группу больных с сочетанными АЗ (АР, БА и АД).

При анализе полиморфного локуса rs6004423 (c.4530+21222G>A), локализованного в гене неохарактеризованного белка KIAA1671 (22q11.23) обнаружено, что у русских больных БА с сопутствующим АР генотип rs6004423*GG и аллель rs6004423*G гена KIAA1671 встречались с более высокой частотой (67,65% и 82,35%), чем в контрольной группе (46,58%, p=0,04, OR=2,4, CI95% 1,02-5,63 и 69,18%, p=0,04, OR=2,08, CI95%1,02-4,25). Аллель rs6004423*G у больных БА с сопутствующим АР башкирской этнической принадлежности также встречался с более высокой частотой (91,07%), чем в контроле (68,82%, p=0,007, OR=4,69, CI95% 1,59-13,84). В объединенной группе больных с сочетанными проявлениями БА, АР и АД обнаружена более высокая частота аллеля rs13207327*T гена бета-катенина 2 DACT2 (6q27), участвующего в морфогенезе эпителиальных клеток (58,06%), чем у индивидов контрольной группы (44,24%, p=0,04, OR=1,75, CI95% 1,01-3,0). Выраженные тенденции к ассоциации полиморфных вариантов rs6004423 с развитием БА у русских, а rs13207327 – у башкир ранее были обнаружены при полногеномном исследовании БА на независимой группе индивидов из РБ.

Таким образом, в данном исследовании показано, что полиморфные варианты rs6004423 гена KIAA1671 и rs13207327 гена DACT2 играют определенную роль в развитии сочетанных форм аллергопатологий.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (№ АААА-А21-121011990119-1) при частичной поддержке Мегагранта Правительства РФ (№ 075-15-2021-595), образцы ДНК взяты из Коллекции биологических материалов ИБГ УФИЦ РАН (№ 007-030164/2).*

# БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРЮШНОГО ТИФА В НИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПАСТЕРА

***А. Т. Саитова*, *Д. Е. Полев***
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14; *a.t.saitova@gmail.com*

*Salmonella enterica* subsp. *enterica serovar* Typhi (S. Typhi) вызывает острую антропонозную инфекцию – брюшной тиф, который способен к широкому эпидемическому распространению. В развитых странах, чаще всего, заболевание выявляют у людей, посещавших эндемичные по брюшному тифу страны. Методы секвенирования следующего поколения с последующей биоинформатической обработкой данных могут использоваться для анализа геномов бактерий, клинико-эпидемиологических исследований, изучения молекулярной эволюции, а также разработки эффективных методов диагностики брюшного тифа. Использование таких методов позволяет в короткий срок получить большой объем информации для расширенной характеристики возбудителя инфекции, что бывает критически важно при проведении эпидемиологических расследований вспышек брюшного тифа. Целью работы является внедрение биоинформатических методов анализа геномов штаммов S. Typhi в практику НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, являющегося референс-центром по брюшному тифу.

В ходе работы проводится секвенирование геномов штаммов S. Typhi с последующим анализом полученных нуклеотидных последовательностей. Данный анализ включает в себя контроль качества секвенирования (FastQC), подготовку прочтений к дальнейшему анализу (Trim Galore), сборку *de novo* (SPAdes 3.15.5) и оценку сборки геномов (QUAST), поиск генетических факторов резистентности, вирулентности и стресса (ResFinder 4.1, AMRFinderPlus 3.11, Mykrobe), определение сиквенс-типов (MLST 2.0, cgMLSTFinder 1.2), построение филогенетических деревьев (Snippy, RAxML-NG v1.1.0) и их визуализацию (FigTree). В результате работы в срок от трех дней с момента получения бактериальной ДНК мы имеем информацию, подтверждающую видовую принадлежность клона бактерий и его чистоту, определяем сиквенс-тип по любой классификации, выявляем генетические маркеры вирулентности и резистентности к АМП, определяем филогенетическое родство с другими штаммами S. Typhi, в том числе штаммами, представленными в научных базах данных. Полученная информация о нуклеотидной последовательности генома может использоваться в дальнейшем при появлении новых баз данных и программ для анализа геномов, или необходимости получения дополнительной генетической информации.

Использование биоинформатического анализа штаммов S. Typhi расширяет наши аналитические и диагностические возможности, позволяет дать необходимую информацию для решения эпидемиологических задач в течение небольшого срока.

*Отраслевая научно-исследовательская программа «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории российской федерации, создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней» на 2021-2025 гг. (госзадание). Регистрационный номер в ЕГИСУ - 121021600227-0 от 16.02.2021*

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕТЕРОМЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ 5-HT7-TRKB В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МЫШЕЙ И ОЦЕНКА ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЗНАЧИМОСТИ

***С. А. Самарина*[1, 2], *Т. В. Ильчибаева*[2], *А. С. Цыбко*[2], *В. С. Науменко*[2]**

[1]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

[2]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

*s.samarina@g.nsu.ru*

Седьмой подтип серотониновых рецепторов (5-HT7) – широко участвует как в регуляции нормальных физиологических функций, так и в патогенезе некоторых психических расстройств. Тирозинкиназный рецептор B (TrkB) специфично взаимодействует с нейротрофическим фактором мозга (BDNF), опосредуя функции обучения, памяти, движения; нарушения BDNF-TrkB сигналинга ведут к развитию нейродегенеративных, аффективных расстройств.

В одном из исследований было показано *in vitro* увеличение фосфорилирования TrkB-рецептора в ответ на обработку клеток агонистом 5-HT7 рецептора. Поскольку известно, что 5-HT7 рецептор связывается физически как с 5-HT рецепторами, так и с белками других классов (киназой CDK5, гликопротеином CD44), можно предполагать не только функциональное, но и физическое взаимодействие между TrkB и 5-HT7 рецепторами. В связи с этим целью данного исследования стало обнаружение гетеромеров 5-HT7-TrkB *in vivo* и общая оценка их функциональной значимости.

Работа проводилась на самцах мышей линии C57Bl/6. Оценка уровня экспрессии генов рецепторов в головном мозге мышей разных возрастов (P1, P14, P30, P60 дни постнатального развития) производилась с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени; наличие комплексов определяли ко-иммунопреципитацией. Функциональная значимость взаимодействия определялась путём оценки вестерн-блоттингом фосфорилирования TrkB рецепторов после острого введения агониста 5-HT7 рецептора LP-212, а также антагонистов 5-HT7 и TrkB рецепторов SB-269970 и ANA-12. Статистическую обработку проводили с помощью однофакторной ANOVA с апостериорным сравнением по Фишеру.

Во фронтальной коре соотношение транскриптов гена Htr7 по отношению к Ntrk2 росло до P14 ($F_{3,27} = 40.85$, $p < 0.0001$) и постепенно снижалось вплоть до P60. В гиппокампе максимальное соотношение мРНК наблюдалось у мышей на P1, после чего резко снижалось ($F_{3,27} = 301.80$, $p < 0.0001$). После P14 соотношение плавно снижалось ($p = 0.04$ при сравнении p14 и p60). В среднем мозге соотношение снижалось резко с P1 к P14 ($F_{3,24} = 13.99$, $p < 0.0001$). Можно заключить, что паттерны экспрессии 5-HT7 и TrkB рецепторов стабилизируются после P14, не должны вносить существенный вклад в функциональное взаимодействие рецепторов во взрослом мозге. В Mb, Hc, FC с помощью ко-иммунопреципитации были обнаружены гетерорецепторные комплексы 5-HT7-TrkB. Таким образом, их наличие было впервые продемонстрировано *in vivo*. Внутрибрюшинная инъекция 5-HT7 агониста LP-212 привела к увеличению фосфорилирования TrkB рецептора в Hc ($p = 0.008$) и Mb ($p = 0.003$); предварительное введение TrkB антагониста ANA-12 нивелировало этот эффект ($p = 0.02$; $p = 0.02$). Таким образом в FC и Hc активация 5-HT7-рецептора приводит к фосфорилированию TrkB рецептора, которое вероятно достигается через физическое взаимодействие в гетерокомплексе.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 20-04-00253.*

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВНУТРИВИДОВОЙ И МЕЖВИДОВОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР ДВУХ ГРУПП МОХООБРАЗНЫХ: БРИОФИТОВ И ПЕЧЕНОЧНИКА *MARCHANTIA POLYMORPHA*

***А. В. Санникова*[1], *М. Р. Шарипова*[1], *Е. В. Шакиров*[1, 2], *Л. Р. Валеева*[1]**

[1] Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *anastasya.sannikova@bk.ru*

[2]Department of Biological Sciences, College of Science, Marshall University, Huntington, USA

Концевые участки линейных хромосом большинства эукариот защищены от негативного воздействия внутренних и внешних факторов теломерами – специальными нуклео-протеиновыми структурами. Длина теломер может значительно варьировать у разных видов организмов. Однако молекулярно-генетические факторы регуляции вариабельности длины теломер и ее роль в выживаемости организма все еще остаются не до конца изученными, в частности, у растений. В связи с этим, использование новых модельных растительных организмов для изучения эволюции и регуляции длины теломер растений имеет особое значение. Мохообразные представляют собой одну из наиболее перспективных групп наземных растений для изучения молекулярных механизмов и эволюции биологии теломер растений, поскольку обладают консервативными для большинства групп растений регуляторными процессами, гаплоидны на протяжении превалирующих стадий жизненного цикла, а также являются монофилетичным таксоном. В связи с этим, изучение и сравнительный анализ длин теломер нескольких групп мохообразных позволит получить данные, которые в дальнейшем станут основой для понимания эволюционной биологии развития растений.

Цель работы – идентифицировать и охарактеризовать внутривидовую и межвидовую вариабельность длины теломер у разных видов мохообразных. Чтобы выяснить молекулярную природу эволюционных изменений теломер мохообразных, в работе были использованы аксеничные культуры мха *Physcomitrium patens* четырех экотипов (Gransden, Reute, Villersexel, Kaskaskia), двудомный мох *Ceratodon purpureus* (мужская R40 и женская GG1 линия), печеночник *M. polymorpha* линии Takaragaike-1 (Tak-1, мужское растение) и Takaragaike-2 (Так-2, женское растение), а также природные изоляты сфагнума *S. fallax* MW (США), *S. girgensohnii* (Россия) и *Sphagnum sp* (Россия). Для анализа длины теломер использовали тотальную ДНК целых растений. Анализ длины теломер проводили методом TRF совместно с Саузерн-блот анализом. Расчет средней длины теломер проводили с помощью программы TeloTool.

Было показано, что длина теломер всех исследованных мохообразных растений отличается от длины теломер модельного покрытосеменного растения *Arabidopsis thaliana*. Также установлено, что длина теломер бриофитов имеет как внутривидовую, так и межвидовую изменчивость, но остается стабильным признаком в течение роста и развития растений на этапе протонем. Длина теломер печеночника *M.* polymorpha в два раза отличается от длины теломер у исследованных зеленых мхов. Также показано, что в геномах, всех исследованных мохообразных присутствуют специфические теломерные последовательности внутрихромосомной локализации, что является отличительной характеристикой для геномов мохообразных. Причем некоторые последовательности отличаются своим расположением и длиной у разных видов и линий растений.

*Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансирована грантом РНФ № 21-14-00147.*

# ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГЛИОМ ПАЦИЕНТОВ К ХИМИО- И ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ IN VITRO С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОГО ИМИДЖИНГА

***Д. А. Сачкова*[1, 2], *М. В. Ширманова*[1], *А. М. Можеров*[1], *К. С. Яшин*[1], *Д. В. Южакова*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *sachkova.collins@gmail.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Низкая эффективность терапии злокачественных глиом – центральная проблема в борьбе с глиомами, и связана она с тем, что стандартные схемы лечения не учитывают особенностей опухоли пациента. Для решения проблемы необходима разработка персонализированного подхода на основе создания пациент-специфических моделей и оценки ответа на терапию с помощью перспективного метода флуоресцентного время-разрешенного имиджинга (FLIM) метаболических коферментов.

Целью работы была оценка чувствительности глиом пациентов к химио- и лучевой терапии in vitro с применением флуоресцентного время-разрешенного имиджинга.

Исследования проводили на первичных клеточных культурах, полученных из послеоперационного материала пациентов с диагнозом глиома (Grade II-IV). Культуры получали путем механической дезагрегации и культивированием мелких фрагментов опухоли. Химиотерапию проводили препаратом Темодал (OrionPharma, Финляндия). Для визуализации автофлуоресценции кофермента никотинамидадениндинуклеотида (фосфата) НАД(Ф)Н использовали конфокальный микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) с приставкой FLIM на основе время-коррелированного счета одиночных фотонов TCSPC (Becker & Hickl, Германия) (возбуждение 375 нм, прием 435-485 нм).

Продемонстрирована возможность использования FLIM-имиджинга НАД(Ф)Н как инструмента для оценки чувствительности глиом к химиотерапии. Увеличение среднего времени жизни автофлуоресценции ($\tau_m$) показывало высокую линейную корреляцию со снижением количества выживших клеток после терапии и, соответственно, более выраженный ответ на действие Темодала. Увеличение $\tau_m$ у респондентов может быть ассоциировано с более окислительным метаболизмом клеток глиом и снижением пролиферации, что подтверждается данными по экспрессии пролиферативного индекса Ki67.

Кроме того, продемонстрировано, что выраженность ответа опухолевых клеток на лечение зависит также от исходного уровня метаболизма в клетках глиом до терапии. Так, наиболее выраженные изменения в $\tau_m$ НАД(Ф)Н после химиотерапии демонстрировались у культур с изначально более окислительным уровнем метаболизма в клетках. Для глиом с более агрессивным гликолитическим метаболизмом был слабый или не было ответа на терапию по результатам FLIM. Так, $\tau_m$ НАД(Ф)Н может служить в качестве индикатора эффективности ответа на терапию и прогностического маркера для предсказания индивидуальной химиочувствительности.

Для лучевой терапии наблюдались схожие изменения $\tau_m$ НАД(Ф)Н. Базовые значения $\tau_m$ в клетках глиом сочетаются с радиочувствительностью, и $\tau_m$ после терапии позволяет оценить эффективность радиационного воздействия.

Метод FLIM-имиджинга может являться надежным инструментом для оценки изменений в клетках глиом пациентов после химио- и лучевой терапии на основе времени жизни флуоресценции НАД(Ф)Н.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 21-75-00098).*

# АНАЛИЗ РОСТА И ГИБЕЛИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В КОЛЛАГЕНОВОМ ГИДРОГЕЛЕ В ОТВЕТ НА ДЕПРИВАЦИЮ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

***Л. М. Сенча*, Е. Л. Гурьев, Е. И. Черкасова, И. В. Балалаева**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*luda-sencha@mail.ru*

В настоящее время активно исследуется влияние внеклеточного матрикса на формирование опухолевыми клетками фенотипа, обеспечивающего их существование и пролиферацию в условиях гипоксии и дефицита питательных веществ, а также резистентность клеток к воздействию цитотоксических соединений. В связи с этим особую популярность приобретают трехмерные модели *in vitro*, более релевантные в отношении сложной структуры опухоли *in vivo*. При этом переход от 2D к 3D клеточным культурам требует модификации методов оценки роста опухоли. Целью данной работы являлась разработка метода количественной оценки роста опухолевых клеток в коллагеновом гидрогеле с использованием флуоресцентного подхода и его апробация в исследовании ответа клеток на неблагоприятные условия культивирования и цитотоксическое воздействие.

В работе были использованы флуоресцентные клетки карциномы яичника SKOVip-kat, эпидермоидной карциномы A431-GFP и карциномы мочевого пузыря T24-GFP. При создании 3D-культуры клеток использовали раствор коллагена I типа. Рост клеток контролировали путем подсчета их количества после деструкции геля и путем анализа общего содержания ДНК в гелях. Нами также предложен подход, основанный на регистрации интегральной флуоресценции гелей без их разрушения. Для этого ежедневно получали изображения гелей, используя установку для поверхностного флуоресцентного имиджинга, и производили обработку изображений с помощью программы ImageJ. Было проанализировано влияние на рост культур опухолевых клеток питательной депривации (культуральная среда без FBS/глюкозы) и гипоксии (1% $O_2$). Исследован ответ клеток на действие цисплатина и направленного противоопухолевого токсина DARPin-LoPE. Проведено сравнение ответа клеток на действие перечисленных факторов при их культивировании в коллагеновом гидрогеле и в монослойной культуре.

Предложенный подход, основанный на регистрации флуоресценции в реальном времени, показал хорошую согласованность с прямым подсчетом выделенных из гидрогеля клеток и измерением содержания ДНК в гелях. Анализ чувствительности клеток SKOVip-kat, A431-GFP и T24-GFP к различной депривации с использованием флуоресцентной визуализации показал, что важным фактором, определяющим чувствительность клеток, является активность их метаболизма и скорость роста. Культивирование в коллагеновом гидрогеле приводило к повышению устойчивости к цисплатину SKOV3ip-kat (в 4 раза) и A431-GFP (более чем в 40 раз). Сравнительное исследование действия различных факторов на 2D- и 3D-моделях показало, что нахождение опухолевых клеток в коллагеновом геле может привести как к снижению, так и к увеличению устойчивости.

*Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ, (договор № 075-15-2022-293).*

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ФРАГМЕНТА ПРОМОТОРА CSF1 НА ЕГО ЭКСПРЕССИЮ

***А. Д. Сергеева*, *А. Д. Перенков*, *В. В. Жуков*, *М. В. Ведунова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*alenasergeeva-1997@yandex.ru*

Известно, что метилирование ДНК играет одну из важных ролей в регуляции экспрессии. В генах с классической регуляцией CpG-островки располагаются в промоторах. Регуляция таких генов, обычно, происходит путем блокировки взаимодействия транскрипционных факторов с ДНК. CSF1 – ген, кодирующий макрофагальный колониестимулирующий фактор, считается предиктором возрастных изменений и ряда заболеваний, в том числе онкологических. CSF1 цитокин, играющий важную роль в регуляции выживания, пролиферации и дифференцировке макрофагов, во врожденном иммунитете и при воспалительных процессах. Оценка метилирования данного гена может быть важной для определения биологического возраста человека и ранней диагностики заболеваний. Целью работы явилось изучение влияния уровня метилирования фрагмента промотора CSF1 на его экспрессию.

Материалом работы послужили образцы периферической крови 10 условно здоровых доноров разного возраста (15-72 года). Оценивали уровень метилирования фрагмента промотора гена CSF1, содержащего 25 CpG-сайтов. Исследование проводили с использованием технологии EpiTYPER (Agena Bioscience, США) согласно рекомендациям производителя. Уровень мРНК оценивали методом ПЦР в реальном времени с использованием готовой смеси SYBR Green (Синтол, Россия). В качестве референсного гена использовали TBP.

В результате работы было показано, что степень метилирования CpG-сайтов фрагмента промотора CSF1 составила 4,5% (2,5%; 14%). Была обнаружена корреляция между уровнем мРНК и степенью метилирования CpG-сайтов cg25479033 и cg25479034 ($Rs=-0,94$; $p<0,05$) и cg25479048 ($Rs=0,85$; $p<0,05$). Зависимости уровня мРНК и степени метилирования от возраста испытуемых или уровня белка не установлено, что может объясняться малым объемом выборки. Cg25479033 и cg25479034 входят в состав сайта связывания для транскрипционных факторов PRDM9 и ZNF816. Cg25479048, в свою очередь, находится внутри сайта связывания для транскрипционных факторов NFIB, NFIC, NFIX и др. Для группы NFI показано участие в регуляции транскрипции CSF1. Возможно, метилирование этих сайтов играет важную роль в регуляции экспрессии гена.

В результате работы установили, что существует обратная корреляция между уровнем метилирования cg25479033 и cg25479034 и уровнем мРНК в крови испытуемых. Зависимости между степенью метилирования, уровнем белка и возрастом не установлено.

*Работа проведена при поддержке программы «Приоритет-2030».*

# СОЗДАНИЕ ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧНОЙ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ ТКАНИ ПРЕДСЕРДИЙ ЧЕЛОВЕКА

***Т. О. Сергеева*, *А. К. Бережной***
Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Московской обл., Институтский пер., 9; *sergeeva4247@gmail.com*

Одним из наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы является персистирующая форма фибрилляции предсердий (ФП) – нарушения ритма сердца, приводящего к развитию сердечной недостаточности и внезапной сердечной смерти. Распространенным методом лечения ФП является хирургическая аблация – создание в ткани предсердия непроводящих зон топологии, способной предотвратить возникновение и развитие спиральных волн реентри.

В данной работе описано создание системы помощи врачу при проведении хирургических абляций, позволяющее повысить эффективность процедуры. В основе системы лежит учет гистологического анализа морфологии предсердной ткани. По результатам анализа создается математическая модель ткани предсердий пациента.

Математическая модель морфологии клеток основана на клеточной модели Поттса. Электромеханическая функция сердца выполняется возбудимыми клетками – кардиомиоцитами, которые генерируют потенциал действия и механическое сокращение. Взаимодействие между кардиомиоцитами, невозбудимыми фибробластами и внеклеточными белками формирует сложную текстуры ткани.

В ходе разработки модели выполняются следующие задачи: (1) получение, иммуногистохимический анализ и конфокальная микроскопия срезов предсердной ткани пациентов с фиброзом и без. Окрашивание тонких срезов осуществляется красителями DAPI, f-actin, α-actinin для количественного и структурного анализа морфологии клеток; (2) разработка модели морфологии монослоя сердечной ткани по данным срезов пациентов с учетом наблюдаемых и варьируемых (итерационных) параметров морфологии; (3) адаптация предсердной модели по данным электрофизиологии клеточного материала пациентов (полученных с помощью метода patch-clamp и оптического картирования).

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МУЛЬЧИРУЮЩИХ СУБСТРАТОВ ДЛЯ ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГОРОДСКИХ ПОЧВ

***М. В. Силаев*, Р. Р. Ахметзянова, З. С. Ежелев**
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1; *Masiisus@gmail.com*

Мульчирование – распространенный прием улучшения почвенных свойств, применяемый в сельском хозяйстве и ландшафтной архитектуре. Многие исследователи показали положительный эффект от использования мульчирующих субстратов, в том числе уменьшение испарения влаги, увеличение плодородия, оптимизация температурного режима, борьба с вредителями и сорняками. В частности, мульча может быть использована как способ поддержания оптимального температурного режима для роста и развития растений, нарушенного антропогенным влиянием. Целью данной работы являлось исследование влияния разных мульчирующих субстратов на температурный режим городской почвы.

Для оценки влияния мульчи был заложен мелкоделяночный эксперимент на базе инструментальных площадок почвенного стационара МГУ: были разбиты 12 площадок – 11 покрытых мульчирующими субстратами и 1 фоновая. Среди субстратов выделяются 7 органических (кокосовые чипсы, сосновая щепа крашеная и некрашеная, кора лиственницы крупная и мелкая фракции, кора сосны крупная и мелкая фракции) и 4 минеральных (змеевик, мрамор, вулканический туф и пеностекло). Толщина мульчирующего слоя составила 5 см. Почвы площадок представлены урбаноземом.

Летом 2022 г. проводились режимные наблюдения влажности влагомером HH2 Moisture Meter с установленным датчиком влажности Ml3 ThetaProbe. По полученным данным, сделаны следующие выводы: наименьшая средняя влажность измерена на фоновом участке (15,49%), а наибольшая зафиксирована под кокосовыми чипсами (31,01%), корой лиственницы мелкая фракция (31,83%) и корой сосны мелкая фракция (29,52%).

Для измерения температуры на каждой делянке были установлены температурные датчики Elitech rc-4 на глубинах 0, 5, 10 см. Измерения проходили с ноября 2021 по август 2022 г. с периодом 3 часа. Для оценки влияния мульчирующих субстратов были использованы данные за период с 11 ноября по 31 декабря 2021 г. и за июнь 2022 г. на глубине 5 см. Отрицательные температуры зафиксированы только на фоновой делянке (19 измерений). Средние температурные показания на площадках с мульчей были выше: 1,62°C под сосновой корой крупной фракции и 0,6°C на фоновой площадке. За июнь наибольшие температуры среди субстратов зафиксированы на фоновой площадке (35,3°C) и под вулканическим туфом (30,9°C), что может быть вызвано низким альбедо поверхности. Под другими субстратами максимальные температуры составили от 19 до 25,9°C. Наибольшие месячные амплитуды температур, также характерны для делянок, покрытых туфом (16,1°C) и фоновой (24,3°C). Перечисленные выше данные подтверждают термоудерживающую и влагоудерживающую функции мульчи, которая позволяет обеспечить оптимальный микроклимат для выращивания растений в городских условиях.

# ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ОПУХОЛЕЙ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЁННОЙ МИКРОСКОПИИ

***С. Д. Синюшкина*[1], *А. Д. Комарова*[1], *И. Н. Дружкова*[1], *И. Д. Щечкин*[1], *Е. Э. Никонова*[2], *М. В. Ширманова*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *ss.snowflake@yandex.ru*

[2]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1

Метаболическая гетерогенность проявляется различиями в метаболическом профиле опухолевых клеток внутри опухоли и опухолях одного типа и стадии у разных пациентов. Ее могут обуславливать различные факторы – (эпи)генетические особенности, гистогенез и степень дифференцировки клеток, особенности опухолевого микроокружения. Метаболическая гетерогенность опухолей считается неблагоприятным прогностическим критерием, но на сегодняшний день она слабо исследована на клеточном уровне. Перспективным методом визуализации клеточного метаболизма является флуоресцентный время-разрешенный имиджинг (FLIM) кофактора НАД(Ф)Н.

Целью работы стала оценка метаболической гетерогенности колоректального рака на клеточном уровне с помощью метода FLIM-микроскопии НАД(Ф)Н

Объектами исследования были библиотечные клеточные культуры колоректального рака человека HT29 и HCT116, мышиные опухоли HT29 и HCT116, послеоперационные образцы колоректального рака пациентов (T3N1M0).

Изображения автофлуоресценции кофактора НАД(Ф)Н регистрировали на лазерном сканирующем микроскопе LSM880 (Carl Zeiss, Германия), оснащенным FLIM модулем (Becker&Hickl GmbH, Германия), $\lambda_{ex}$ = 750 нм, $\lambda_{em}$ = 450–490 нм. В качестве источника возбуждения использовали фемтосекундный Ti:Sa лазер Mai Tai HP (Spectra Physics, США). Автофлуоресценцию анализировали в цитоплазме клеток в программе SPCImage (Becker&Hickl, Германия) с определением параметров затухания флуоресценции НАД(Ф)Н: $\tau1$ и $\tau2$ – время жизни короткой и длинной компонент, a1 и a2 – их относительные вклады, $\tau m$ – среднее время жизни. Анализ данных осуществлялся в программе SPSS Statistics 26.0. Для количественной оценки гетерогенности использовали индекс бимодальности (BI) (Shirshin et al. PNAS, 2022).

При поклеточном анализе наиболее выраженные различия между клеточными линиями и опухолями отмечались для параметра a1. Для линии HT29 a1 составляло 80,11±1,34% *in vitro* и 82,05±2,33% *in vivo* ($p<0,001$), для линии HCT116 – 84,13±1,58% *in vitro* и 80,59±2,01% *in vivo* ($p<0,001$). В целом для обеих линий разброс значений a1 в мышиных опухолях был выше. В образцах опухолей пациентов отмечались более низкие значения a1 (73,05±3,90%, $p<0,001$), что указывает на более окислительный метаболизм. В образцах *ex vivo* была наиболее выражена гетерогенность метаболизма, что подтверждалось высокими значениями BI=0,94–1,53. Для сравнения BI в культурах клеток для линий HT29 и HCT116 составлял 0,16 и 0,22, а в опухолях мышей 0,98 и 0,55 соответственно.

Таким образом, нами впервые показана и количественно оценена метаболическая гетерогенность колоректальных опухолей методом FLIM-микроскопии.

*Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 22-64-0057).*

# ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА ПОВЕДЕНИЕ, ЭКСПРЕССИЮ BDNF И СЕРОТОНИНОВУЮ СИСТЕМУ МОЗГА У МЫШЕЙ С НОКАУТОМ ГЕНА TNF

***А. К. Скотникова*[1], *С. Н. Адонина*[2], *В. С. Москалюк*[2], *Е. А. Куликова*[2], *Д. В. Базовкина*[2]**

[1]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*a.skotnikova@g.nsu.ru*

[2]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Провоспалительный цитокин фактор некроза опухоли (TNF) вовлечен в регуляцию поведения, нейротрофического обеспечения мозга и работу серотониновой системы мозга. В свою очередь, к изменениям уровня нейротрофического фактора BDNF в мозге и нарушениям поведения может приводить хроническое введение синтетического глюкокортикоида дексаметазона.

Целью данной работы было исследование влияния полного нокаута гена Tnf на чувствительность мышей к длительному введению дексаметазона. Эксперименты проводили на половозрелых мышах с нокаутом гена Tnf (TNF KO) и мышах инбредной линии C57BL/6 (WT). Среди животных каждой линии 10 получали инъекции дексаметазона, другие 10 – инъекции физиологического раствора. Уровень экспрессии генов, кодирующих BDNF, его рецепторы и компоненты серотониновой системы в структурах мозга (префронтальная кора, гиппокамп, средний мозг) оценивали методом ОТ-ПЦР реального времени. Уровни белков BDNF и его предшественника proBDNF оценивали методом Вестерн-блот анализа, а уровни серотонина (5-HT) и его метаболита 5-HIAA в структурах мозгах исследовали методом ВЭЖХ.

Статистический анализ выявил снижение двигательной активности в тесте «Открытое поле» ($p<0,05$), усиление депрессивно-подобного замирания в тесте «Подвешивание за хвост» ($p<0,05$) и усиление тревожности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ($p<0,05$) у мышей линии TNF KO в отличие от мышей WT ($p>0,05$) при длительном введении дексаметазона. Напротив, ухудшение когнитивных способностей в тесте «Новый объект» наблюдалось только у мышей WT ($p<0,05$). В гиппокампе у мышей линии TNF KO было выявлено увеличение экспрессии гена Bdnf на уровне мРНК ($p<0,05$) и увеличение уровня содержания белка proBDNF на уровне тенденции ($p=0,06$), в префронтальной коре увеличение уровня содержания белка proBDNF сильнее было выражено у мышей TNF KO ($p<0,05$ для WT и $p<0,001$ для TNF KO). Дексаметазон привел к увеличению соотношения 5-HIAA/5-HT в префронтальной коре на уровне тенденции ($p=0,06$) и снижению экспрессии гена, кодирующего 5-HT7 рецептор ($p<0,05$), в среднем мозге у животных линии TNF KO. Полученные данные позволяют расширить представления о влиянии иммунной системы на нейротрофическое обеспечение и работу серотониновой системы мозга.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 21-15-00051 (рук. Д. В. Базовкина).*

# АКУСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АГРЕГАЦИИ И УПРУГОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

***К. Е. Скотникова, А. И. Садовская, Г. В. Жаркова, Д. А. Солопина, Т. А. Веселова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*sskotnikovaa@yandex.ru*

Изучение реологических параметров клеток крови имеет важное значение для диагностики, мониторинга и профилактики различных осложнений, обусловленных гипергликемией.

Цель представленной работы – исследование агрегации и упругости эритроцитов практически здоровых пациентов, а также пациентов с гипергликемией акустическим методом и оценка возможности использования акустической интерферометрии эритроцитов в комплексной диагностике гипергликемии.

Материалами исследования служили образцы цельной крови практически здоровых доноров (контроль, 30 образцов), а также пациентов с гипергликемией (40 образцов).

Концентрацию глюкозы в крови оценивали с использованием реагентов «ГЛЮКОЗА ДДС», содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) с помощью реагентов «ГЛИКОГЕМОТЕСТ». Акустические исследования упругости и агрегации эритроцитов проводили на акустическом анализаторе «БИОМ». Упругость эритроцитов исследовали по изменению скорости распространения продольных ультразвуковых волн (в диапазоне частот 6–9 МГц) в цельной крови и плазме крови. Для оценки способности эритроцитов к агрегации изучали изменения акустического параметра (АКП) цельной крови в течение 240 секунд.

Гипергликемия (содержание глюкозы в крови 8,03±0,08 ммоль/л) сопровождалась активацией процессов гликирования белков, о чём свидетельствовало повышение содержания гликированного гемоглобина в крови пациентов (7,63±0,71%).

Методом акустической интерферометрии обнаружено статистически значимое повышение упругости эритроцитов у пациентов с гипергликемией по сравнению с показателем у практически здоровых доноров.

В крови пациентов с гипергликемией наблюдалась более быстрая агрегация эритроцитов по сравнению с таковой у практически здоровых доноров. В образцах крови практически здоровых доноров АКП крови медленно снижались, приближаясь к минимальным значениям к концу измерения (после 200 секунд). При гипергликемии акустические параметры крови достигали минимальных значений в течение 20–50 секунд измерения, затем наблюдали повышение АКП. Сходные изменения агрегационных свойств крови обнаружены у отдельных пациентов с нормогликемией. Повышение скорости агрегации эритроцитов при гипергликемии может быть обусловлено снижением отрицательного поверхностного заряда клеток вследствие накопления гликированных белков в мембране эритроцитов.

Увеличение упругости и скорости агрегации эритроцитов при гипергликемии, по всей видимости, свидетельствуют о микроциркуляторных осложнениях патологического состояния и показывает возможность использования акустической интерферометрии эритроцитов в комплексной диагностике тяжести гипергликемического синдрома.

# СОДЕРЖАНИЕ ОРГАНИЧЕСИХ КИСЛОТ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В СВЕЖИХ ПЛОДАХ КАЛИНЫ

***А. Д. Смелова***
Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
*alinasmelova245@icloud.com*

Органические кислоты – это продукты распада веществ, в процессе реакции обмена, в молекулу которых входит карбоксильная группа. Органические кислоты принимают участие в дыхании растений, биосинтезе белков, жиров и других веществ, относятся к веществам как первичного синтеза (яблочная, уксусная, щавелевая), так и вторичного синтеза (урсоловая, олеаноловая). Являются фармакологически активными веществами и участвуют в суммарном эффекте препаратов и лекарственных форм растений.

Аскорбиновая кислота (витамин С) – главный водорастворимый антиоксидант, защищающий мышечную ткань, мозг и нервную систему от свободных радикалов и восстанавливающий окисленный витамин Е в его антиоксидатную форму. Витамин С участвует в транспорте электронов в окислительно-восстановительных процессах, является восстановителем и легко переходит в дегидроаскорбиновую кислоту.

Объектом исследования послужил фармакопейный вид: калина обыкновенная и 3 сорта калины: «Шукшинская», «Соузга», «Ульгень». Содержание суммы органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту определяли титриметрическим методом. Количественное определение аскорбиновой кислоты в плодах проводили фотометрическим методом.

Согласно фармакопейной статье (ФС.2.5.0076.18 Калины плоды свежие) содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту должно быть не менее 6%. Наибольшее содержание органических кислот выявлено в плодах калины сорта «Шукшинская» и «Соузга», что составляет 13,4 и 12,3 % соответственно. Наименьшее количество органических кислот обнаружено в плодах калины обыкновенной (6,3 %) и сорта «Ульгень» (5,1 %). Следовательно, в плодах калины сорта «Шукшинская» содержится несколько больше органических кислот, по сравнению с другими калинами.

Сравнивая плоды калины сорта «Шукшинская» и сорта «Соузга» между собой, можно заключить, что содержание органических кислот в плодах калины сорта «Шукшинская» в 1,1 раза больше, по сравнению с плодами калины сорта «Соузга». В калине обыкновенной содержание органических кислот в 2,1 раза меньше, чем в подах сорта «Шушкшинская\". Самое низкое содержание органических кислот из анализируемых образцов было выявлено в плодах калины сорта «Ульгень», что меньше в 2,5 раза, по сравнению с сортом «Шукшинская» и в 1,2 раза, чем в плодах калины обыкновенной.

Согласно нашим исследованиям, наибольшее количество аскорбиновой кислоты содержится в калине сорта «Шукшинская» (0,23 %) и «Ульгень» (0,21 %). Наименьшее количество аскорбиновой кислоты обнаружено в плодах калины сорта «Соузга» (0,17 %) и калины обыкновенной (0,16 %). По содержанию аскорбиновой кислоты в плодах калины можно построить следующий ряд по убыванию: «Шукшинская» > «Ульгень» > «Соузга» > калина обыкновенная.

# ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНТИ-EGFR ПРЕПАРАТА ПО ИЗМЕНЕНИЮ МЕТАБОЛИЗМА В КЛЕТКАХ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА С РАЗЛИЧНЫМИ ДРАЙВЕРНЫМИ МУТАЦИЯМИ

***С. А. Смирнова*[1], *А. Д. Комарова*[2], *А. М. Можеров*[2], *М. В. Ширманова*[2], *И. Н. Дружкова*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*sofismi401@gmail.com*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Мутации KRAS и BRAF наиболее часто встречаются при колоректальном раке – и затрагивают основных участников пролиферативного каскада RAS-MAPK. В литературе имеются данные о связи наличия данных мутаций и метаболических изменений в клетках. Однако роль клеточного метаболизма и его изменение при таргетной терапии практически не изучены до настоящего времени. Проведение подобных исследований открывает возможности для повешения эффективности терапии в дальнейшем.

Одним из перспективных и неинвазивных методов, позволяющим вести длительный мониторинг живых клеток, является флуоресцентная микроскопия эндогенного метаболического кофактора НАД(Ф)Н с временным разрешением (FLIM). Целью данной работы явилась оценка исходных метаболических состояний и метаболических изменений в клетках с различными драйверными мутациями при влиянии препарата Цетуксимаб методом FLIM.

Материалы и методы: клеточные линии CaCo-2(KRASwt, BRAFwt), HT-29 (KRASwt, BRAFV600E), HCT-116 (KRASG13D, BRAFwt); лазерный сканирующий микроскоп LSM 880 (Carl Zeiss) с FLIM-модулем; цетуксимаб (Merck, Германия) иммуногистохимическое окрашивание – маркер пролиферации ki-67, апоптоз (метод TUNEL, Servicebio, Китай); флуоресцентные красители для выявления живых и мертвых клеток (Live/Dead kit, Sigma, США).

В результате анализа образования колоний выявлено, что линия CaCo-2 ингибируется Цетуксимабом, а линии HT-29 и HCT-116 обладают резистентностью к препарату. При оценке изначального метаболического статуса клеток было показано преобладание гликолиза у клеток HT-29 и HCT-116 относительно CaCo-2. После 72 часов воздействия препарата Цетуксимаб статистически значимое снижение среднего времени жизни tm и вклада свободного НАД(Ф)Н (a1), которое говорит о сдвиге метаболического статуса в сторону окислительного фосфорилирования, наблюдалось только у клеточной линии CaCo-2, что коррелирует с наличием терапевтического ответа. Схожие метаболические изменения наблюдались у клеток CaCo-2 и в составе опухолевых слайсов. Окрашивание срезов опухоли подтвердило терапевтический ответ.

Таким образом, впервые была показана возможность метода FLIM для выявления метаболических изменений, вызванных наличием мутаций в генах kras и braf, а также для определения эффективности таргетной терапии на клетках колоректального рака в клеточном монослое и в составе опухолевых слайсов.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава РФ «Морфологические структуры «клетка в клетке» как прогностический критерий прогрессирования онкологических заболеваний».*

# ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА *PRUNELLA GRANDIFLORA* НА АДАПТИВНЫЕ ПРИЗНАКИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

***Р. Д. Соколов*, Ж. Р. Харисова, Я. Н. Бобков, В. В. Костенко**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *SoresK@yandex.ru*

Многие нейродегенеративные и ряд метаболических синдромов у человека связаны с изменением соотношения титров Kyn/Trp в крови, что является биохимическим индикатором таких патологий как сахарный диабет 2 типа, депрессия, воспаление. Кроме того, мутации в генах, кодирующих ферменты TDO, KMO приводят к накоплению токсичных метаболитов (антраниловая, ксантуреновая, кинуреновая кислоты) в основныом проявляющих себя как нейротоксичные факторы. Поиск нейропротекторов сегодня является актуальной задачей. Большую роль при этом отдают нейропротекторам природного происхождения. Поэтому целью работы явилось изучение протекторных свойств растительного экстракта *Prunella grandiflora* на формирование поведенческого фенотипа у *Drosophila melanogaster*.

В работе использовали линии мух с мутациями в генах vermilion (v), cinnabar (cn) и scarlet (st). В качестве контроля использовали мух линии дикого типа Canton-S. Мух исследуемых линий выращивали в стандартных условиях на сахарно-дрожжевой среде (контроль) и на среде с добавлением 10% спиртового экстракта *P. grandiflora* (опыт). Оценивали влияние экстракта на двигательную активность дрозофил, которую определяли по методу вертикального подъема. Статистический анализ производили, используя программу Statistica 13.0. Применяли методы t-критерия, $\chi^2$ и ANOVA.

Обнаружили, что 10% экстракт черноголовки по сравнению с контрольной группой не изменяет параметры двигательной активности у самок и самцов линии Canton-S. Выявлено достоверное увеличение индекса двигательной активности на 21,7% у мутантов cn, получавших экстракт. У мутантов с дефицитом TDO в случае самок активность не изменилась, а у самцов снизилась на 17.1%. В опытной группе мутантов по гену st у самок двигательная активность увеличилась на 14.6%, а у самцов произошло снижение показателя на 26%.

Таким образом, можно предположить, что 10% экстракт *P. grandiflora* имеет разнонаправленное действие на нервную систему, которое зависит от особенностей генотипа и метаболизма триптофана.

# ДИНАМИКА НАСЕЛЕНИЯ ПТИЦ НА ТЕРРИТОРИИ МЕЖДУНАРОДНОГО АЭРОПОРТА НИЖНЕГО НОВГОРОДА «ЧКАЛОВ» В ХОЛОДНОЕ ВРЕМЯ ГОДА

***М. С. Соколова, О. С. Носкова, Н. Е. Колесова, С. А. Баранов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*qwersokolowa@yandex.ru*

На территории Международного аэропорта Нижнего Новгорода «Чкалов» для обеспечения безопасности полетов воздушных судов периодически проводится оценка круглогодичной орнитологической обстановки. Мозаичная территория аэропорта создает разнообразные условия для птиц и привлекает их сюда в разные сезоны года. Мониторинг орнитокомплексов в последний раз здесь вели в период с сентября 2021 г. по август 2022 г. Птиц учитывали на постоянном маршруте с неограниченной полосой учета.

В холодное время года – во внегнездовой период (сентябрь – апрель) на территории аэропорта было отмечено 65 видов птиц, в т.ч. 13 видов, не встреченных летом (мохноногий канюк, дербник и др.). За осень было отмечено 33 вида, из которых 25 видов было встречено в октябре. В это время большинство птиц активно кочует в поисках корма и мигрирует в южном направлении. За зиму отмечали не более 21 вида. Большинство из них фоновые и обычны для нашей полосы. Их состав в это время относительно стабилен (синицы, врановые, дятлы). Небольшие изменения могут происходить за счет кочующих зимой хищных птиц или стайных видов (чижей, черноголовых щеглов и т.п.). В весенний период наблюдается увеличение видового богатства – до 55 видов птиц. Это связано с естественными процессами миграции птиц в места гнездования.

Обилие орнитокомплекса заметно снижается с сентября по январь (с 1162 до 276 особей/кв. км). Осенью это особенно выражено в дневные часы, поскольку в утреннее время птицы мигрируют более активно. Резкое снижение обилия происходит к ноябрю, что связано с ранними снегопадами, пришедшими в начале месяца. Затем к середине зимы происходит небольшое нарастание обилия птиц. В целом зимой этот показатель не превысил 250 особей/кв. км. Весной двукратное увеличение обилия птиц было отмечено в апреле.

Основу орнитокомплекса составили мелкие воробьиные. В течение практически всего холодного времени года по обилию доминировала большая синица. Хотя в отдельные месяцы доминанты могли меняться. Например, в сентябре синица была субдоминантом, а доминировал по обилию зяблик. Он же преобладал по этому показателю и в целом за осень. Зимой и в начале весны в числе лидеров по обилию отмечался обыкновенный снегирь, в марте – кряква, полевой воробей и рябинник, последний стал единственным доминантом в апреле и в целом за весну. В среднем за осенне-зимний период лидирующие виды составили в орнитокомплексе от 32 до 65% по обилию. В апреле с прилетом мигрантов, участие разных видов в орнитокомплексе выравнивается, что подтверждается и ростом видового разнообразия – значения индекса Шеннона (самое низкое в ноябре – 0,91 ед., в феврале составляет 2,22 ед., а в апреле увеличивается до 3,30 ед.).

Сбор корма в большей степени осуществлялся птицами на поверхности земли, кустарниках и высокотравье, а также в кронах деревьев. Птицы, использующие стволы деревьев, водное и воздушное пространства составили не более 4–6% по обилию. Весной возрастает доля видов, кормящихся на поверхности воды – до 18% в марте и до 8% в апреле. Осенью и весной преобладали наземно-кормящиеся птицы (до 60 и 64% по обилию, соответственно), зимой и в марте – птицы-кронники и кормящиеся в кустарниках и высокотравье (30–40%). Зимой соотношение птиц, кормящихся на поверхности земли, в кронах деревьев, кустарниках и высокотравье практически выравнивалось. Весной участие последних двух групп заметно снизилось (до 11–12%), они уступали даже птицам, кормящимся на поверхности воды.

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ РЕДКОИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОЙ И НИЗКОЙ МОЩНОСТИ ДОЗЫ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА А431

***С. С. Сороко*[1], *Д. В. Скамницкий*[2], *Д. С. Молодцова*[1], *И. В. Балалаева*[1], *В. А. Воденеев*[1], *Н. Ю. Шилягина*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kastarashan@gmail.com*

[2]Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, 603163, Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1

Радиотерапия является одним из основных методов лечения онкологических заболеваний в современной врачебной практике. Однако, несмотря на разнообразие используемых видов радиотерапии, знания о клеточных и молекулярных механизмах действия ионизирующего излучения разной природы и мощности дозы отрывочны.

В связи с широким применением радиотерапии для лечения карцином, работе использовали клеточную культуру эпидермоидной карциномы человека А431. Облучение проводили в двух режимах воздействия: высокой мощности дозы с использованием линейного ускорителя Novalis Tx путем облучения клеток электронами или фотонами высоких энергий и низкой мощности дозы бета-эммиссионными закрытыми препаратами Sr-Y-90.

Облучение осуществляли в диапазонах от 4 до 80 Гр. Оценку жизнеспособности клеток после воздействия проводили методом МТТ-теста. Для анализа вклада цитотоксических и цитостатических эффектов проводили клоногенный анализ и подсчет абсолютного количества клеток А431 после облучения, исследование механизмов клеточной гибели и анализ распределения клеток по фазам клеточного цикла проводили методом проточной цитофлуорометрии.

Мониторинг продукции активных форм кислорода (АФК) в клетках после облучения осуществляли с использованием АФК-чувствительного флуоресцентного зонда H2DCF-DA, исследование проводили методом конфокальной лазерной сканирующей флуоресцентной микроскопии.

Показано, что во всех вариантах облучения процент жизнеспособных клеток значительно ниже при оценке через 72 часа после облучения, через 24 часа снижение жизнеспособности клеток не превышает 20%. При этом значение LD50 после облучения в режиме низкой мощности дозы в 4 раза больше, чем при воздействии высокой мощности дозы. Зарегистрировано увеличение концентрации $H_2O_2$ в клетках в 4 раза через час после облучения корпускулярным излучением дозами, близкими к полулетальным для каждого из режимов воздействия.

В результате облучения клеток электронами высоких энергий в режиме высокой мощности дозы наблюдали цитостатические эффекты, проявляющиеся в увеличении количества клеток, претерпевающих радиационный блок митозов в фазе G2/M. В случае бета-излучения низкой мощности дозы подобной закономерности выявлено не было. При этом через 72 часа после воздействия было зарегистрировано дозозависимое увеличение числа мёртвых клеток. Через 24 и 48 часов после воздействия количество мёртвых клеток было заметно ниже, что может быть связано с тем, что клеточная гибель наступает в процессе одного из первых четырёх пострадиационных митозов.

Мы предполагаем, что проведенный сравнительный анализ механизмов действия ионизирующих излучений разной природы и мощности дозы потенциально открывает путь к разработке новых, усовершенствованных протоколов проведения радиотерапии онкологических заболеваний.

*Работа выполнена при поддержке Центра передового опыта «Центр фотоники» Министерства науки и высшего образования РФ No 075-15-2022-293.*

# СОСТАВ И РАЗВИТИЕ КРИОФИТОПЛАНКТОНА ОЗЕРА ВАД (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

***А. С. Соснина*, *Е. Л. Воденеева***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*a.sosnina25@gmail.com*

Озеро Вад является памятником природы регионального значения, расположенный в Вадском районе Нижегородской области. Своему происхождению озеро обязано карстовым процессам в толще пермских гипсов. Уникальность озера в первую очередь заключается в наличии карстовой воронки – «воклины» с пещерой. Озеро имеет своеобразный гидрологический режим. Предполагается, что Вад связан с другими природными водоемами района подземными туннелями и образует с ними единую гидрологическую систему. Озеро также относится к частично незамерзающим водоемам.

В водоемах умеренной зоны выделяют два периода – вегетационный и зимний, который в большинстве случаев остается неизученным. Активное изучение криопланктона производились в морских экосистемах, однако в последние годы все большее признание в области гидробиологических наук получает пресноводная зимняя лимнология. Целью данной работы является изучение состава и количественного развития криофитопланктона карстового оз. Вад. Материалом для работы послужили альгологические пробы, отобранные в зимний период 2022 г. Пробы льда на водоеме отбирались при помощи кольцевого ледобура. Полученный керн льда делился на три блока: верхний (лед+снег), средний (кристаллический лед), нижний (лед+вода). Производился отбор криопланктона из подледной воды в объеме 1л.

По результатам зимних исследований в озере отмечено 27 видовых и внутривидовых таксонов водорослей, принадлежащих к 23 родам, 22 семействам, 16 порядкам, 8 классам, 6 отделам. Преобладали представители отдела Bacillariopyta – 13 таксонов ниже рода (48%) и Chlorophyta – 6 таксонов ниже рода (22,2%), также были отмечены Cyanobacteria – 3 (11,1%), Cryptophyta – 3 (11,1%), Miozoa (Dinophyta) – 1 (3,7%), Euglenozoa – 1 (3,7%).

Среди классов наиболее значимыми являлись Bacillariophyceae (44,4%) и Chlorophyceae (18,5%), которые включали 17 (62,9% от видового богатства) видовых и внутривидовых таксонов. К ведущим порядкам альгофлоры озера относились Naviculales (18,5%), Cryptomonadales (11,1%) и Synechococcales (11,1%), представители которых составили около 41% от общего видового богатства зимнего фитопланктона.

Значения биомассы зимнего растительного планктона озера колебались от 0,302 до 6,043 г/м$^3$, а численность от 0,134 до 1,788 млн. кл./л. Основу биомассы формировали динофитовые водоросли, преимущественно за счет развития Borghiella sp., которая отмечалась как в толще льда, так и подледной воде, где ее показатели развития были максимальными. Биомасса варьировала от 0, 297 г/м$^3$ (98% от общей биомассы) в верхнем слое льда до 5,724 г/м$^3$ (98%) в воде.

# ИЗУЧЕНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРГЛИКЕМИЕЙ, ГИПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМИЕЙ И СОЧЕТАННЫМИ ПАТОЛОГИЯМИ МЕТОДОМ АКУСТИЧЕСКОЙ ИНТЕРФЕРОМЕТРИИ

***В. Ю. Спирина*, Н. В. Рябова, Н. А. Безруков, Т. А. Веселова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*veranda29@yandex.ru*

Изучение реологических параметров клеток крови имеет важное значение для диагностики, мониторинга и профилактики осложнений, обусловленных гипергликемией и гиперхолестеролемией. Цель представленной работы – исследование упругости и агрегации эритроцитов акустическим методом при гипергликемии, гиперхолестеролемии и сочетании нарушений.

Материалами исследования служили 40 образцов крови пациентов с гиперхолестеролемией, 40 образцов с гипергликемией и 10 образцов с сочетанными патологиями. В качестве контроля использовали 30 образцов крови практически здоровых доноров.

Содержание глюкозы, общего холестерина, ЛПНП, триглицеридов в крови оценивали ферментативными фотометрическими методами с использованием наборов реагентов «Диакон-ДС», содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) – методом аффинной хроматографии. Исследования упругости и агрегации эритроцитов проводили на акустическом анализаторе «БИОМ». Основой прибора является ультразвуковой интерферометр постоянной длины. Исследовали изменения скорости распространения продольных ультразвуковых волн (акустические параметры, АКП) (в диапазоне частот 6-9 МГц) в плазме и цельной крови. Исследования ригидности клеток проводили на сканирующем ион-проводящем микроскопе (СИПМ) в «прыжковом» режиме, одновременно регистрируя морфологию.

Методом акустической интерферометрии обнаружено повышение упругости эритроцитов у пациентов с гипергликемией, гиперхолестеролемией и сочетанными патологиями по сравнению с контролем (в среднем на 20%), что может приводить к нарушению микроциркуляции и гипоксическому повреждению тканей.

Наиболее выраженные изменения агрегации эритроцитов обнаружены при гипергликемии. В образцах крови практически здоровых доноров АКП крови медленно снижались, приближаясь к минимальным значениям к концу измерения (через 200 секунд после начала измерения). У пациентов с гиперхолестеролемией начало агрегации эритроцитов наблюдали в среднем после 80-90 секунд измерения акустического параметра клеток, при гипергликемии – после 20-50 секунд, у пациентов с сочетанными патологиями – через 60-70 секунд после начала измерения, при дальнейших измерениях наблюдали повышение АКП. Результаты оценки реологических свойств эритроцитов при гипергликемии и гиперхолестеролемии методом акустической интерферометрии подтверждены данными исследования ригидности клеток на сканирующем ион-проводящем микроскопе.

Таким образом, акустическим методом у пациентов с гиперхолестеролемией, гипергликемией, сочетанными патологиями было обнаружено повышение упругости и агрегации эритроцитов. Полученные результаты показывают возможность использования акустической интерферометрии эритроцитов в комплексной диагностике гипергликемического синдрома и дислипидемий.

*СИПМ исследования поддержаны грантом РНФ 22-14-20001.*

# РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ ВОЗБУЖДЕНИЯ И ТОРМОЖЕНИЯ СПАЙКОВОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ ГЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

***С. В. Стасенко***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*stasenko@neuro.nnov.ru*

Включение астроцитов в классическую схему «пресинапс-постсинапс» привело к формированию концепции тройственного синапса (Araque et al., 1999; P. G. Haydon, 2001) (Araque et al., 1999; P. Haydon, 2001). Данная концепция основа на том, что глиальные клетки (астроциты) через кальций-зависимое высвобождение глиатрансмиттера (глутамата) способны воздействовать на пре- и постсинаптические компартменты синапса. При генерации спайков на пресинаптическом нейроне происходит высвобождение нейротрансмиттера (к примеру, глутамата) из пресинаптической терминали. Часть нейротрансмиттера может диффундировать вне синаптической щели и связываться на метаботропных глутаматных рецепторах (mGluRs) астроцита, который может быть расположен вблизи пресинаптической терминали. Активация метаботропных глутаматных рецепторов G-опосредованно приводит к образованию инозитол-1,4,5-трифосфата (ИТФ). ИТФ диффундирует внутри клетки и связывается на ИТФ зависимых рецепторах эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и приводит к высвобождению Ca2+ в цитоплазму. Увеличение свободного кальция в астроците может приводить к высвобождению глиатрансмиттеров (к примеру, глутамата, аденозинтрифосфата (АТФ), D-серина, ГАМК) в синаптическую щель и во внесинаптическое пространство и последующему модуляционному воздействию на синаптическую передачу при связывании на пре/ или постсинаптических рецепторах (Perea, Navarrete and Araque, 2009).

В данной работе предлагается модель регуляции процессов возбуждения и торможения спайковой нейронной сети глиальными клетками - астроцитами. Модель нейрона описывается уравнениями Ижикевича (izihikevich, 2007). Нейрон-глиальное взаимодействие описывается феноменологическим подходов, предложенным в работе (Gordleeva et al., 2012; Lazarevich et al., 2017). Нейронная сеть состоит из 300 нейронов, 80 % из которых - возбуждающие нейроны, 20% – тормозные нейроны. Вероятность связи возбуждающих нейронов – 5%, вероятность связи тормозных нейронов – 10%. На каждый нейрон подается внешний шум, имеющий равномерное распределение от 0 до 1. На нейронную сеть в течении 189 мс подается изображение, пиксели которого преобразуются в ток от 0 до 1, во временной развертке на слой возбуждающих и тормозных нейронов. Было получено, что подаваемое изображение приводило к формированию пачечного режима активности сети, что скрывало изображение, предъявляемое нейронной сети. В то же время синаптическая депрессия вероятности высвобождения нейротрансмиттера возбуждающих синапсов приводила к десинхронизации нейронов и разрушению пачечной активности, что позволяло проявить изображение.

Таким образом, было показано, что астроциты имеют важное значение в процессах преобразования и передачи сигналов на нейрональное рецептивное поле.

*Работа поддержана в рамках Программы развития регионального научно-образовательного математического центра «Математика технологий будущего», проект № 075-02-2020-1483/1 и грантом Президента РФ НШ-2256.2022.1.2.*

# ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОТЕАЗНОГО СУБСТРАТА НА ОСНОВЕ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ФЕНОТИАЗИНОМ

***Г. А. Степанов***
Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1;
*238gregory@gmail.com*

Протеазы вовлечены во многие физиологические процессы и играют роль в развитии заболеваний. Для определения протеолитической активности существует множество методов, которые зачастую требуют применения специализированного оборудования либо проведения сложных протоколов анализа. Метод циклической вольтамперометрии позволяет миниатюризировать измерительную систему для использования непосредственно по месту применения. Целью данной работы являлось исследование модельного субстрата с электрохимической меткой для определения протеолитической активности.

Был приготовлен субстрат на основе бычьего сывороточного альбумина, связанного с молекулами фенотиазина в присутствии глутарового альдегида. Полученный субстрат наносили на поверхность планарных трехэлектродных систем, состоящих из графитовых и хлорсеребрянного электродов. Затем к субстрату на поверхности электрода добавляли раствор трипсина с концентрацией 0,01% в 0,1 М фосфатном буфере с pH 8.0 и термостатировали при 37°C в течение 30 минут. После проводили измерения силы тока на потенциостате-гальваностате в диапазоне потенциалов от -500 до +500 мВ.

Установлено, что после инкубации субстрата с трипсином в концентрации 0,01% значение силы тока системы при потенциале +200 мВ составляло 0,079±0,001 мкА. При инкубации с фоновым электролитом значение силы тока было ниже и составляло 0,064±0,003 мкА. Полученные значения свидетельствуют, что субстрат на основе бычьего сывороточного альбумина, связанного с молекулами фенотиазина в присутствии глутарового альдегида, обладает электрохимической активностью. Действие трипсина на субстрат приводит к повышению уровня сигнала, получаемого при измерении силы тока на потенциостате-гальваностате. Предполагается, что под действием трипсина происходит расщепление бычьего сывороточного альбумина, приводящее к высвобождению электроактивной молекулы фенотиазина и ее миграции к поверхности электрода, что вызывает изменение сигнала.

Таким образом, установлено, что планарная трехэлектродная система с нанесенным на нее субстратом на основе бычьего сывороточного альбумина, связанного с молекулами фенотиазина под действием глутарового альдегида, может быть использована для определения активности протеазы.

# ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ *EMYS ORBICULARIS* (REPTILIA: EMYDIDAE) В РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

***И. А. Столярова*, *Е. Б. Романова*, *А. Г. Бакиев*, *Р. А. Горелов***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*s.irenka99@yandex.ru*

Болотная черепаха *Emys orbicularis* внесена в Красный список МСОП с категорией таксона, находящегося в состоянии, близком к угрожаемому – «Near Threatened» (NT) (Red List…, 2020). Восточная часть ареала заходит в речные бассейны Волги и Урала, где вид представлен популяциями гаплолинии I номинативного подвида *E. o. orbicularis*. В связи с нарастающими отклонениями сезонных температурных показателей и прессом антропогенной нагрузки особое внимание привлекает изучение эколого-физиологических механизмов адаптации этой наиболее широко распространенной внутривидовой формы к новым формирующимся условиям среды обитания.

Целью работы являлся сравнительный анализ лейкоцитарного профиля крови болотной черепахи *Emys orbicularis* биотопов степной зоны Оренбургской области и пустынной зоны Астраханской области.

Объектами исследования явились особи болотной черепахи, добытые в ГПЗ «Оренбургский» (Беляевский район, окрестности участка «Буртинская степь» Оренбургского заповедника; 16 – 17 июня 2020 г.; 16 особей – 11 самок и 5 самцов) Астраханской области (Красноярский район, окрестности пос. Комсомольский; 27 – 29 августа 2020 г.; 48 особей – 28 самок и 20 самцов). Кровь брали путем прокола хвостовой вены. После взятия крови все особи были возвращены в места отлова. Дифференцированный подсчет клеток крови производили под микроскопом при увеличении ×1500 с иммерсионной системой. По морфологическим особенностям определяли пять типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (моноциты, лимфоциты). На основании подсчета лейкоцитарной формулы крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы для каждой особи.

Преобладающими лейкоцитарными клетками в периферической крови болотных черепах являлись лимфоциты (40–45%). Среди гранулоцитов доминировали гетерофилы (Оренбургская выборка), обеспечивающие реакции неспецифической естественной защитной системы организма или базофилы (Астраханская выборка), обладающие высокоспецифичными функциями, связанными с активным высвобождением гистамина при поступлении антигенов. У болотных черепах Оренбургской выборки межполовых различий по лейкоцитарным показателям не выявлено. При этом самцы Оренбургской выборки отличались от самцов Астраханской выборки повышенной долей гетерофилов ($z = 3{,}810$, $p < 0{,}001$) и пониженным содержанием базофилов ($z = 3{,}681$, $p < 0{,}001$). Самки обеих выборок различались по всем показателям формулы крови, кроме эозинофилов, доля которых была одинакова. В периферической крови самок Оренбургской выборки выявлено более высокое содержание гетерофилов ($z = 3.848$, $p < 0{,}001$), моноцитов ($z = 4.079$, $p < 0{,}001$), и пониженное содержание базофилов ($z = 5.159$, $p < 0{,}001$) и лимфоцитов ($z = 2.780$, $p = 0{,}003$).

# ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦЕРИЯ В МЕДИЦИНЕ

***А. Р. Сулейманова*[1], *Н. И. Игнатова*[1], *И. А. Шеферов*[2], *Н. Б. Мельникова*[2], *И. Н. Дружкова*[1]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *glowskin@mail.ru*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Развитие нанотехнологий за последнее десятилетие биомедицине. Наночастицы оксида церия (НОЦ) интересны тем, что в *in vitro* и *in vivo* исследованиях описаны как цитотоксические, так и цитопротекторные эффекты, которые обусловлены как прооксидантными, так и антиоксидантными свойствами этих наночастиц. В ряде работ описано противоопухолевая активность НОЦ, а также повышение чувствительности раковых клеток к лучевой и химиотерапии при одновременном использовании НОЦ.

Цель исследования – оценить терапевтический эффект наночастиц оксида церия, разработанных на кафедре медицинской и аналитической химии ННГУ.

Материалы и методы: наночастицы оксида церия; клеточные линии: HCT116 и HT29 (аденокарцинома колоректального рака человека), B16 (мышиная меланома) и huFB (фибробласты кожи человека). Оценка выживаемости: МТТ-тест.

На кафедре медицинской и аналитической химии ННГУ были получены наночастицы оксида церия с размерностью порядка 2 нм, по результатам рентгенодифракционного анализа полученного порошка.

С помощью МТТ-тест было проанализировано воздействие наночастиц на три клеточные линии – HT29, HCT116 и B16. Для линии HCT116 была рассчитана полуингибирующая концентрация (ИК50) наночастиц, которая составила 166,1± 40,9 мкг/мл. Для линии B16 ИК50 составила 190,1±20,4 мкг/мл. Для линий HT29 и huFB воздействие было стимулирующим.

Наши результаты демонстрируют довольно высокую терапевтическую эффективность наночастиц оксида церия на клеточной линии HCT116 и более низкую эффективность в отношении клеточной линии B16. Для опухолевых клеток линии HT29 было продемонстрировано стимулирующее воздействие. Стимулирующее воздействие наночастиц на кожные фибробласты указывает на терапевтический потенциал для местного лечения ран. Таким образом, противоопухолевая эффективность наночастиц является очень избирательной и зависит от особенностей опухолевых клеток, а их регенеративный потенциал требует дополнительных исследований.

# ВЛИЯНИЕ АРГОНОВОЙ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ КОЖИ КРЫС

***А. В. Суровегина*[1, 2], *В. В. Назаров*[2], *А. К. Мартусевич*[1, 2]**

[1]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *aleksandranikolaeva@icloud.com*

[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Целью данного исследования служило сравнительное изучение диэлектрической проницаемости кожи крыс при обработке аргоном и аргоновой холодной плазмой. Установлено, что курсовая обработка участка кожи крыс газовыми потоками вызывает формирование специфичного функционально-метаболического и морфоструктурного ответа.

Эксперимент выполнен на 40 крысах-самцах линии Вистар. Первая группа животных (n=10) была контрольной. Крысам остальных групп (по n=10 в каждой) ежедневно обрабатывали участок кожи спины. Продолжительность курса – 10 процедур. Животные 2-й группы получали обработку потоком аргона (длительность – 1 минута), крысы 3-й и 4-й – аргоновой холодной плазмой (длительность – 1 и 2 минуты соответственно).

Оценку диэлектрической проницаемости кожи животных осуществляли по завершении полного курса воздействий. Для этого использовали комплекс, обеспечивающий проведение ближнепольного резонансного СВЧ-зондирования биологических тканей.

По уровню диэлектрической проницаемости тканей было показано, что курсовая обработка участка кожи спины животного потоком неионизированного аргона умеренно снижает указанный показатель (в 1,15 раза; $p<0,05$ относительно крыс, с которыми не проводили никаких манипуляций).

При экспозиции в 1 минуту значение параметра не отличалось от контрольного, тогда как удвоение продолжительности воздействия способствовало его умеренному, статистически достоверному нарастанию (на 7,2%; $p<0,05$ по сравнению с крысами интактной группы). Учитывая то обстоятельство, что диэлектрическая проницаемость ткани, базово определяясь ее морфоструктурными характеристиками, существенно зависит от степени гидратации, можно предположить, что курсовая обработка неионизированным аргоном снижает интенсивность локальной циркуляции в данной области кожи. Напротив, аргоновая холодная плазма либо сохраняет ее на исходных значениях, либо умеренно стимулирует.

Проведенные эксперименты позволили установить, что обработка участка кожи крыс газовыми потоками с различной ионизацией вызывает формирование специфичного функционально-метаболического и морфоструктурного ответа. При этом неионизированный аргон выраженно снижает диэлектрическую проницаемость, а результат действия холодной аргоновой плазмы зависит от экспозиции. При одноминутной обработке наблюдали сохранение проницаемости тканей на интактном уровне. В случае увеличения времени воздействия до 2 минут диэлектрическая проницаемость повышалась.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №22-25-00652).*

# ОПТИМИЗАЦИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРВОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ТРЕХПЕТЕЛЬНОГО ТОКСИНА ГАДЮКИ *VIPERA NIKOLSKII* И ЕГО МУТАНТНЫХ ФОРМ НА ГЕТЕРОМЕРНЫХ НЕЙРОНАЛЬНЫХ А3-СОДЕРЖАЩИХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРАХ

***Д. А. Сухов*, *В. Ю. Кост*, *М. И. Скрипка*, *Л. А. Епифанова*, *И. В. Шелухина***
Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; *sukhovdim@yandex.ru*

Трехпетельные α-нейротоксины являются характерным компонентом ядов кобр, крайтов и морских змей и обеспечивают их основное нейротоксическое действие, однако до настоящего времени данные токсины не находили в ядах гадюк. Наша недавняя работа по транскрипционному анализу ядовитых желез *Vipera nikolskii* позволила обнаружить нуклеотидную последовательность, кодирующую новый трехпетельный токсин TFT-VN и впервые изучить его свойства (ДАН, 2018). Для трехпетельного токсина TFT-VN обладал уникальным фармакологическим профилем, предпочтительно ингибируя гетеромерные нейрональные α3-содержащие нАХР. Нейрональные нАХР являются известными молекулярными мишенями при ряде нейродегенеративных и психических патологий, а также миастений и заболеваний воспалительной природы. Таким образом, разработка их новых ингибиторов может иметь терапевтическое значение. В настоящей работе с целью повышения сродства к целевым молекулярным мишеням были получены мутантные формы данного трехпетельного токсина TFT[G43E]-VN и TFT[F12V, V13W]-VN. Для повышения эффективности биотехнологической наработки в штаммах бактерии *Escherichia coli* белка TFT-VN, являющегося цистеин-богатым трехпетельным токсином, был предложен новый метод его ренатурации при получении в виде нерастворимых белковых агрегатов. Однако при использовании данного метода выход целевого продукта был недостаточно высоким. Поэтому для повышения выхода рекомбинантного трехпетельного токсина с правильной структурой была создана генетически-кодируемая химерная конструкция, содержащая ген мутантного токсина TFT[G43E]-VN или TFT[F12V, V13W]-VN с присоединенным к нему тиоредоксином.

Молекулярная масса, количество замкнутых дисульфидных связей и чистота белковых образцов были определены методами масс-спектрометрии и гель-электрофореза. Методом кальциевого имиджинга было показано, что мутантные токсины TFT[G43E]-VN и TFT[F12V, V13W]-VN не уступают по ингибирующей способности исходному рекомбинантному токсину TFT-VN.

Таким образом, была проведена оптимизация гетерологической экспрессии функционально-активных трехпетельных α-нейротоксинов змей в штаммах бактерии *E. coli*.

# ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА ГЛИОМ

***Т. В. Копытова, Л. М. Обухова, И. А. Медяник, А. С. Гришин, В. Ф. Лазукин, М. Д. Егорова, Д. А. Кузнецова***

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *mariaegorova28@mail.ru*

К наиболее часто используемым в клинической практике маркерам глиом, определяемым с помощью иммуногистохимии, относятся мутации IDH, метилирование промотора MGMT, белок p53, уровень пролиферативной активности Ki-67. Обмен белков при глиомах имеет характерные особенности, которые могут быть использованы для диагностики. Целью работы является оценка взаимосвязи особенностей электрофореграммы белков сыворотки крови с иммуногистохимическими характеристиками глиальных опухолей.

Анализировалась сыворотка крови 20 пациентов (39-61 лет) с глиомами разной степени анаплазии: Grade II – 7 пациентов (диффузная астроцитома, олигодендроглиома); Grade III – 4 пациента (анапластическая астроцитома, анапластическая олигодендроглиома), Grade IV – 9 пациентов (глиобластома, диффузная глиома средней линии) до проведения противоопухолевой терапии. Критерии исключения: возраст до 18 лет; наличие грубой соматической патологии; глиомы с мультифокальным ростом. Гистологический диагноз установлен по классификации ВОЗ опухолей. Контроль – сыворотка здоровых лиц: 4 мужчин, 2 женщин (31–56 лет). Для гистологического анализа операционный материал фиксировался в 10% формалине. Стандартная гистологическая проводка осуществлялась на аппарате «Excelsior ES» (Thermo Scientific, США). Для выявления маркеров использовались антитела к IDH1 Anti-IDH1 R132H (Dianova International, Испания); антитела к MGMT (клон EP337), артикул AC-0307RUO (Epitomics, США), первичные антитела Anti-p53 (клон DO-7) (Leica biosystems, Германия). Степень пролиферативной активности опухоли определяли с использованием антител к Ki-67 (клон SP6) (Thermo Scientific, США). Электрофорез белков сыворотки крови осуществляли на пленках из ацетата целлюлозы с применением диагностического комплекса УЭФ-01-«АСТРА». Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета AnalystSoft Inc., StatPlusa, v. 6.

Предварительный анализ полученных электрофореграмм от больных глиомами, позволил обнаружить появление в общем спектре белков сыворотки крови дополнительных маркерных фракций, локализованных между гамма- и бета-глобулинами. относительно электрофореграмм здоровых лиц. Локализация этих фракций позволяет идентифицировать их как глиальный фибриллярный кислый протеин и белок S-100. Проведение корреляционного анализа позволило выявить прямую значимую взаимосвязь уровня данных белковых фракций и содержания в опухоли Ki-67 – ядерного белка, ассоциированного с пролиферацией клеток и обратную – с наличием мутации IDH, которая сопровождается более медленным прогрессированием опухоли.

Сопоставление полученных данных с характеристиками основных маркерных белков глиом позволит предложить дооперационный способ диагностики этих новообразований- на основе анализа электрофоретическооого профиля белков сыворотки крови.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Программы развития ПИМУ «Приоритет 2030» № 204 от 17.06.2022.*

# БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ ГОРОХА И ПШЕНИЦЫ

***С. С. Тарасов*, *К. К. Крутова***
Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *tarasov_ss@mail.ru*

Изучение ЦП играет особую роль в виду их значимости при формировании протеома. Для более глубокого понимание важно не только исследовать *in vitro* активность и экспрессию генов данных ферментов, но и осуществлять биоинформатический анализ аминокислотных, нуклеотидных последовательностей и белковых структур ЦП. В связи с чем целью работы было провести биоинформатический анализ ЦП гороха и пшеницы.

Поиск нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводили в базе данных NCBI https://www.ncbi.nlm.nih.gov/. Анализ изоформ иРНК и белка одного и того же гена проводили путём BLAST поиска исследуемого гена. Для выявления идентичных и вариативных участков иРНК и белка проводили попарное или множественное выравнивание всех изоформ иРНК и беков в MEGA X (https://www.megasoftware.net/). Вторичную структуру белка предсказывали с помощью программы PSIPRED в режиме он-лайн (http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/). Поиск мотивов и структурных доменов у белка проводили с помощью Scan-Protsite (https://prosite.expasy.org/scanprosite/) CDD (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd). Моделирование трёхмерной структуры белка на основе гомологии проводили с помочью Swiss-Model (https://swissmodel.expasy.org/).

Blast CP у гороха выявил 9 записей, но цистеиновым протеиназам соответствует только 6 из них, 2 из которых максимально похожи (CAC41636.1 и CAA92583.1) и состоят из 350 аминокислот. Остальныепротеиназы существенно отличаются, так фермент под номером CAA46863.1 имеет существенно больший размер состоит из 464 аминокислот, фермент под номером P25804.1 включает в себя 363 аминокислоты, фермент CAA06243.1 состоит из 360 аминокислот, а протеиназа AAB41816.1 включает в себя 367 аминокислот. Исследование аминокислотных последовательностей CP пшеницы выявило множество схожих белков, однако большая часть из них не идентифицирована и обозначена как предполагаемые «hypotheticalprotein». Среди идентифицированных как цистеиновая протеиназа выявлено по крайней мере 4 записи: AAW21813.1 и BAE96008.1 содержат 377 аминокислот, SPT18090.1 – 361 аминокислота и AWW05355.1 – 469 аминокислот.

Во вторичной структуре ЦП гороха и пшеницы показано существенное преобладание спиральной организации над складчатой, при этом спиральная организация формируется в начале молекулы, а складчатая в её конце. Неупорядоченные области имеют высокую долю в организации вторичной структуры фермента. Моделирование трехмерной организации показала, что молекулы ЦП исследуемых растений представлена олигомономером т.е., ограничена третичной структурой. Установлено, что у гороха фермент имеет 3 активных центра.

# ГРАВИМЕТРИЧЕСКИЕ КОЭФФИЦИЕНТЫ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ И ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА КАК МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ КВЧ-ТЕРАПИИ АДРЕНАЛИНОВОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ У КРЫС

***Д. А. Тарасова, Д. М. Бондаренко, С. В. Копылова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*dasha_tarasova_00_00@mail.ru*

Отек легких – патологическое состояние полиэтиологической природы, характеризующееся усиленной транссудацией жидкости из сосудов микроциркуляторного русла легких в интерстициальную ткань или альвеолы. 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила о начале пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Течение и прогрессирование болезни COVID-19 в определенной мере напоминает тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС, SARS) по репликации вируса в нижних дыхательных путях с развитием тяжелых иммунных нарушений и гипоксии, отека легких. Целью данной работы являлось исследование изменения гравиметрических коэффициентов легочной ткани и показателенй оксидативного стресса при КВЧ-терапии адреналинового отека легких у крыс.

Для исследования использовали 30 половозрелых крыс (самок) массой 0,18–0,23 кг. Животные были разделены на группы: интактные животные; контроль – животные, которым воспроизводили адреналовый отек легких (адреналин вводился внутрибрюшинно в дозе 0,5 мг/кг); опыт – животные, которым воспроизводили отек, а затем производилась КВЧ-терапия 10 суток по 10 минут на две акупунктурные точки аппаратом КВЧ-ИК терапии портативного со сменными излучателями «СЕМ ТЕСН». Для оценки выраженности отека легких использовали гравиметрические коэффициенты: легочный коэффициент (ЛК), сухой остаток легких (СОЛ) и степень гидратации легких (СГЛ). Подсчет концентрации МДА, активности СОД в плазме крови проводился стандартными методами.

Было установлено, что в контрольной группе у крыс увеличивались ЛК и СГЛ с уменьшением СОЛ, что характеризует отек легких. При исследовании про- и антиоксидантной системы у крыс наблюдалось повышение уровня МДА, на фоне уменьшения активности СОД. Полученные результаты указывают на развитие оксидативного стресса с истощением системы антиоксидантной защиты.

При действии КВЧ-излучения наблюдалось снижение ЛК и СГЛ, имелась тенденция к увеличению СОЛ, происходило снижение уровня МДА, а активность СОД в плазме крови увеличилась. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о положительном терапевтическом эффекте моно-КВЧ-терапии при адреналиновом отеке легких у крыс, а исследуемые показатели могут быть использованы как маркеры эффективности данного способа лечения.

# ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА НАЛИЧИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В БАЙКАЛЬСКОМ ЗООБЕНТОСЕ

***Т. Ю. Тельнова*, М. М. Моргунова, С. С. Шашкина, А. А. Власова, Е. А. Мишарина, А. С. Коновалов, В. С. Еланцева, Д. В. Аксенов-Грибанов**

Иркутский государственный университет, 664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 1;
*telnovatamara1410@gmail.com*

Загрязнение окружающей среды фармацевтическими препаратами является одной из наиболее значимых, и в то же время малоизученных проблем. Данные загрязнители оказывают существенное воздействие на водные экосистемы, в том числе и на их биоту. В связи с этим были проведены мониторинги водоемов, в результате которых лекарственные препараты и антибиотики обнаружены в Восточно-Китайском (Южном) море [Kim et al., 2017], в водоемах европейских стран, США [Rehman et al., 2015] и в Марианской впадине [Qiu, 2016].

Особую значимость приобретают исследования по анализу содержания лекарственных препаратов в эндемичных обитателях древних экосистем. Одной из таких экосистем, отличающихся своей структурной и экологической сложностью, выступает экосистема озера Байкал и ее обитатели. В то же время, нормативной базы, регулирующей поступление фармацевтических загрязнителей в озеро Байкал, также не выявлено. При анализе государственных докладов о состоянии озера Байкал различных годов (2008-2017) и научных публикаций, не было обнаружено информации о проведении мониторинговых исследований по загрязнению экосистемы лекарственными препаратами. Предполагается, что, подобно иным водоемам, лекарственные вещества вместе со сточными водами в результате человеческой жизнедеятельности могут попасть и в воды озера Байкал.

Таким образом, целью данного исследования являлось качественное выявление лекарственных препаратов в амфиподах озера Байкал с помощью методов высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС).

Оценку контаминации экосистемы лекарственными препаратами проводили на примере эндемичных и распространенных амфипод родов *Eulimnogammarus, Brandtia* и *Pallasea*. Для проведения качественного анализа и определения параметров ионизации молекул применяли 33 лекарственных препарата, таких как ацетилсалициловая кислота, ибупрофен, антибиотики тетрациклиновой группы и др. Исследования выполнены на базе хромато-масс-спектрометрического комплекса Agilent Infinity II с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6470B(QQQ).

В ходе настоящего исследования был показан факт наличия лекарственных препаратов в обитателях озера Байкал в следовых количествах. Установлено, что от 63% до 100% амфипод различных популяций загрязнены лекарственными препаратами синтетического происхождения. Это может негативно сказываться как на самой экосистеме, так и на ее обитателях при миграции загрязнителей по трофическим цепям.

*Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно – образовательных центрах (проект 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал).*

# МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ КОРЫ МОЗГА, ВЫЗЫВАЕМОЙ ЭПИПИАЛЬНОЙ АППЛИКАЦИЕЙ КАЛИЯ

***М. С. Теренина*, Р. Н. Хазипов, А. В. Захаров**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*mari_terenina@inbox.ru*

Целью данной работы является моделирование локального полевого потенциала (ЛПП), соответствующего распространяющейся деполяризации (РД), индуцируемой эпипиальной апликацией калий-хлора. Для этой цели использовали систему NEURON Python и экстраклеточный модуль, которые позволяют воспроизводить особенности функционирования одиночных нейронов и вычислять изменения макроскопических параметров моделируемого пространства (концентрации ионов, потенциалы и т.п.).

Для воспроизведения эффекта эпипиальной аппликации калий-хлора были использованы следующие параметры и настройки модели: размер пространства 1600x1000x1000 мкм с граничными условиями Неймана, включены все соответствующие работе нейрона параметры. Плотность нейронов 90000 на мм$^3$. Эпипиальную аппликацию имитировали путем задания болюса калия на одной из границ пространства. ЛПП вычислялся из суммарных трансмембранных токов калия и натрия на основе биофизической модели, реализованной в NEURON. Учитывались потенциалы действия нейронов, расположенных на расстоянии не более 200 мкм от каждого электрода.

Было проведено сравнение динамики локального потенциала при поверхностном расположении калия с результатами *in vivo* регистрации внеклеточного потенциала в коре мозга крысы при эпипиальной аппликации калий-хлора. Общая динамика характерного параметра – значения ЛПП – соответствует экспериментальным наблюдениям. Среднее значение амплитуды РД составляет ~ -22 мВ, что согласуется с экспериментом. Скорость вертикального распространения РД данных ЛПП составляет 60 мм/мин, что также соответствует экспериментальным данным.

Планируется дальнейшее моделирование сети нейронов с добавлением внешнего источника стимуляции током в частотном диапазоне эпилептических паттернов.

# ТУЧНОКЛЕТОЧНАЯ ПОПУЛЯЦИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

***Е. Е. Теунов*, *Р. В. Ахмедзянов***

Южно-Уральский государственный медицинский университет, 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64; *egor.teunov@yandex.ru*

Сахарный диабет был и остается одной из наиболее значимых медико-социальных проблем во всем мире. Большое количество современных исследований нацелено на поиск новых методов своевременной диагностики и лечения данного заболевания, однако, не смотря на большие успехи в этой области, до сих пор остается много нерешенных вопросов. Одним из новых потенциальных звеньев в патогенезе сахарного диабета все чаще рассматривают тучные клетки, что и легло в основу проведения настоящего исследования.

Цель исследования – охарактеризовать тканевые базофилы поджелудочной железы крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа.

Объектом исследования выступили половозрелые самцы крыс линии Wistar, разделенные на 2 экспериментальные группы: К – контрольная группа, включающая интактных животных (n=10), О – опытная группа, включающая животных с экспериментальным аллоксановым сахарным диабетом 1 типа (n=10).

Морфологическое исследование тучных клеток поджелудочной железы экспериментальных животных проводили на тонких серийных срезах, окрашенных толуидиновым синим по стандартной методике. Подсчет показателей производили с использованием программно-аппаратного комплекса «Видео Тест – Морфология 5.0». Статическую обработку данных производили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 23.

В ходе исследования было установлено, что общее количество тучных клеток в единице условной площади (1 мм$^2$) поджелудочной железы крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа более чем на 20% больше таковой в контроле (К – 48,3 (46,2; 52,9), О – 62,1 (58,3; 64,7) клеток). При этом обращает на себя внимание характер распределения мастоцитов в ткани поджелудочной железы. Так, у интактных животных 91,51 (90,78; 92,42) % клеток располагались в строме органа, 7,25 (6,06; 7,80) % залегали в межацинарной области и только 1,51 (1,42; 1,52) % находились в островках Лангерганса. У животных с экспериментальной патологией на 8,66% снизилось количество тучных клеток стромы, однако их содержание в экзокринной и эндокринной частях органа статистически значимо возросло на 4,59% и 3,37% соответственно. Более того, снизилась степень насыщения мастоцитов гранулами с 1,94 (1,89; 1,96) усл. ед. в контроле до 1,74 (1,58; 1,79) усл. ед. у опытных животных и резко повысился уровень их дегрануляции с 1,09 (1,04; 1,23) усл. ед. до 1,36 (1,35; 1,38) усл. ед.

Популяция тучных клеток поджелудочной железы крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа характеризуется изменением качественного и количественного состава, что находит свое проявление в увеличении общего количества мастоцитов, перестройке в субпопуляционном составе, снижении степени насыщения и уровня дегрануляции данных клеток.

# ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК МИКРОГЛИИ В ХРОНИЧЕСКИЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

***А. В. Тимофеева*, *Р. Р. Шигапова***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*anua_tima@mail.ru*

Травматическое повреждение спинного мозга (ТСМ) вызывает серьезные нарушения функционирования центральной нервной системы, что влечет за собой как физические, так и социальные осложнения в жизни человека. В последние десятилетия все больше внимания уделяется изучению поведения различных типов клеток в ткани травмированного спинного мозга. Полученные результаты открывают широкие перспективы для терапии пациентов с заболеваниями данного патогенеза. В нашей работе мы провели количественную оценку клеток микроглии, имеющих нейротоксический (M1) и нейропротективный (M2) фенотип в хронический период (60 сутки) после ТСМ различной степени тяжести в отделе, приближенном к эпицентру повреждения (Th10), а также на удалении от ТСМ в ростральном (C6-C7) и каудальном направлении (L2-L3).

Крысам породы Wistar наносили контузионную ТСМ легкой (1,5 м/с), средней (2,5 м/с) и тяжелой (4 м/с) степени тяжести при помощи Leica Impact One Stereotaxic на уровне Th8. На 60 сутки после повреждения области спинного мозга Th10, C6-C7 и L2-L3 забирали на мультиплексный анализ для выявления количественного содержания таких цитокинов, как MIP-1a (M1 фенотип) и IL-10 (M2 фенотип). Концентрация провоспалительного хемокина MIP-1α в зоне L2-L3 достоверно отличался при сравнении групп интактных и травмированных крыс (4 м/с). Содержание IL-10 (противовоспалительный цитокин) в области C6-C7 в группе 1,5 м/с было достоверно ниже при сравнении с группами 2,5 м/с и 4 м/с. Аналогичные показатели отмечаются и в зоне, приближенной к эпицентру травмы. При исследовании содержании вышеназванного цитокина в области L2-L3 достоверные различия были обнаружены между группой интактного контроля и группами травмированных животных (1,5 м/с и 4 м/с), причем экспрессия IL-10 была значительно выше в последних группах.

Таким образом, после ТСМ различной степени тяжести наибольшие изменения в распределении M2 фенотипа клеток микроглии были обнаружены как в области, приближенной к месту травмы, так и как на удалении от него (C6-C7). В то же время, в каудальном направлении от эпицентра ТСМ были отмечены изменения в популяции клеток микроглии как с фенотипом M1, так и с фенотипом M2.

*Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского Федерального Университета (Приоритет-2030).*

# ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВИТАМИННЫХ КОМПЛЕКСОВ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛИ НА ОСНОВЕ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

***В. В. Титов***

Северо-Кавказский федеральный университет, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, 1;
*titovadim@yandex.ru*

Аскорбиновая кислота и рутин – жизненно важные витамины. Они являются водорастворимыми, значит могут вводиться в водные растворы полимеров. В нашем исследовании были рассмотрены пектин и крахмал, которые безопасны, обладают желирующими свойствами, благодаря чему их используют в пищевой и медицинской промышленности.

Целью исследования являлось изучение возможности инкапсулирования витаминов в гелеобразователи на основе высших растений.

Для анализа использовали метод титриметрии. Проводилось исследование динамики содержания аскорбиновой кислоты и рутина, введенных в полимеры, при хранении образцов и степень выхода витаминов при гидролизе в модельных условиях, имитирующие желудочный и кишечный сок человека.

Исследована степень капсулирования рутина и аскорбиновой кислоты в течение времени в растворах полимеров. К концу третьей недели концентрации витаминов в растворах полимеров выравниваются.

Изучена степень деградации комплексов в растворах полимеров в средах, имитирующих кишечный и желудочный соки.

В растворе крахмала с рутином комплекс распадается сильнее в кислой среде, чем в растворе пектина (0,25% в растворе крахмала и 0,75% – в растворе пектина). В растворе пектина с рутином комплекс легче распадается в щелочной среде (0,25% в растворе пектина, 0,75% – крахмала).

В модельной среде желудочного сока аскорбиновая кислота легче освобождается в растворе крахмала (33,03% в растворе крахмала и 71,56% – пектина). В модельной среде кишечного сока степень высвобождения аскорбиновая кислоты в растворах крахмала и пектина оказалась одинаковой (2,75% в обоих растворах).

# ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВИТАМИННЫХ КОМПЛЕКСОВ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛИ НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

***В. Д. Ткаченко***
Северо-Кавказский федеральный университет, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, 1;
*vitkdm@mail.ru*

Проблема несовместимости витаминов, являющихся антагонистами друг друга, может быть решена за счет создания поливитаминных препаратов, инкапсулированных в многослойные капсулы. Благодаря разному времени растворения определенных слоев и разной среде ЖКТ витамины будут полноценно усваиваться.

Исследования возможности создания поливитаминных препаратов, инкапсулированных в гелеобразователи на основе производных целлюлозы, основывались на методах перманганато– и алкилометрии.

При проведении количественного определения витаминов в полученных комплексах было выявлено, что на второй неделе эксперимента процентное содержание рутина и L-аскорбиновой кислоты в метилцеллюлозе составляло 45,2 и 50% соответственно. Для карбоксиметилцеллюлозы показатели составили 20 и 33% соответственно.

По результатам третей недели исследования было определено количественное содержание биофлавоноидов и L-аскорбиновой кислоты в карбоксиметилцеллюлозе – 5% и 16,3% соответственно. В метилцеллюлозе оно составило 27,5 и 5% соответственно.

При исследовании влияния среды на степень деградации комплексов было выявлено, что количественное содержание рутина в составе карбоксиметилцеллюлозы в кислой среде составило 20%, а в щелочной – 5,35%; для метилцеллюлозы – 7 и 10% соответственно.

Для L-аскорбиновой кислоты показатели составили 5,35 и 33% в кислой среде для карбоксиметилцеллюлозы и метилцеллюлозы соответственно. В щелочной среде определить количественное содержание витамина не представляется возможным.

По результатам исследования можно сделать вывод, что оптимальным полимером для изготовления витаминизированных комплексов в гелеобразователях является метилцеллюлоза, так как именно в ней процентное содержание витаминов на протяжении всего исследования было наивысшим.

# УВЕЛИЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГЛИОМЫ К ХИМИОТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

***Д. Ю. Травникова*[1], *В. С. Брезгина*[1], *М. Ю. Кордюкова*[2], *К. Д. Балышева*[2], *Ю. В. Котелевцев*[1], *Т. О. Абакумова*[2, 3]**

[1]Центр нейробиологии и реабилитации мозга им. В.Л. Зельмана. Сколковский институт наук и технологий, 121205, Москва, Большой бул., 30/1; *Daria.Travnikova@skoltech.ru*

[2]Федеральный центр мозга и нейротехнологий, 117513, Москва, ул. Островитянова, 1/10

[3]Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1/7

Глиомы являются наиболее трудноизлечимыми злокачественными образованиями центральной нервной системы. Проблема лечения этого заболевания заключается как в сложности применяемых методов, так и в многочисленных механизмах лекарственной устойчивости. Одним из новых способов преодоления химиорезистентности могут служить малые интерферирующие РНК (миРНК), способствующие избирательной деградации матричных РНК. Ранее было показано, что обработка лекарственно-устойчивых клеток других типов рака препаратами на основе миРНК восстанавливала их чувствительность к химиотерапии. Целью данной работы являлся поиск потенциальной молекулярной мишени, чей нокдаун позволил бы повысить восприимчивость глиомы к стандартным терапевтическим препаратам.

На первом этапе работы были отобраны десять потенциальных генов (PMSD10, LMX1B, HAS2, UBR1, UBR5, DDX3, EZH2, EEF2, ACTC1, PARP1), для которых, вероятно, характерна гиперэкспрессия в глиомных клетках. Далее был проведен анализ экспрессии данных генов на мышиной культуре глиомы GL261 с помощью ПЦР в реальном времени, и для сравнения на первичной линии астроцитов. Было показано, что экспрессия гена EZH2 в мышиной глиоме более чем в 2 раза превосходит уровень экспрессии в здоровых клетках ($p<0.05$); экспрессия остальных генов отличалась статистически не значимо.

Анализ экспрессии так же был проведен на десяти первичных культурах глиомы пациентов. Для пяти образцов была характерна увеличенная продукция мРНК ганкирина (PMSD10) более чем в 1,5 раза по сравнению с астроцитами, а на стандартных экспериментальных линиях человеческой глиобластомы LN18 и U87 было показано увеличение экспрессии PMSD10 более 3 раз.

Следующим этапом на первичных линиях человеческой глиомы провели анализ цитотоксичности с использованием стандартных химиопрепаратов для лечения глиомы - темозоломида и ауронафина. В работе было показано, что IC50 (концентрация полумаксимального ингибирования) чистого первого химиопрепарата составляет в среднем 708 мкМ, в то время как второго - 1,07 мкМ. Далее мы планируем проанализировать действие химических препаратов на клетках с нокаутом по отобранным генам-мишеням.

Таким образом, в ходе работы были найдены гены, ответственные за лекарственную устойчивость глиомных клеток и проанализирована химиоустойчивость двух препаратов на первичных линиях от пациентов.

*Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 22-75-10151).*

# АССОЦИАЦИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И КАТАЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА С ПОЛИМОРФНЫМИ ВАРИАНТАМИ ГЕНОВ SOD2 И CAT

***Е. А. Трофимова*[1], *Л. В. Полякова*[2], *Е. С. Жукова*[2], *А. М. Иркаева*[2], *Т. Г. Щербатюк*[2], *О. М. Чеканина*[3], *Т. В. Жиляева*[3], *А. С. Благонравова*[3]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kamalova.evgesha@inbox.ru*

[2]Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии Роспотребнадзора, 603005, Нижний Новгород, ул. Семашко, 20

[3] Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

В настоящее время наблюдается все больше этнических и расовых взаимосвязей между активностью антиоксидантных ферментов и полиморфизмами их генов, что определяет актуальность исследования данного феномена для различных популяций. Цель работы – оценка ассоциации полиморфизмов генов SOD2 и CAT с ферментативной активностью супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах крови условно здоровых добровольцев, проживающих в Нижегородской области.

В исследовании приняли участие 72 волонтера, проживающие на территории Нижегородской области, в возрасте от 19 до 60 лет. Активность антиоксидантных ферментов определялась спектрофотометрически. Активность супероксиддисмутазы (СОД) - по реакции с нитросиним тетразолием, активность каталазы - по реакции с пероксидом водорода. ДНК выделялась из венозной крови с помощью коммерческого реагента «ДНК-Экспресс-кровь» («ООО НПФ ЛИТЕХ», Россия). Молекулярная диагностика аллелей генетических полиморфизмов осуществлялась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллель-специфичными праймерами («SNP-экспресс-PB») и последующей детекцией в режиме реального времени (Rotor-Gene3000/6000 (CorbettResearch, Австралия), Rotor-GeneQ (Qiagen, Германия). Для определения аллелей однонуклеотидных полиморфизмов использовались наборы производства НПК СИНТОЛ (Россия). ПЦР-анализ осуществлялся на базе проблемной научной лаборатории ПЦР-исследований НИИ профилактической медицины ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России.

В ходе исследования проводилась оценка взаимосвязи полиморфизмов C47T и T58C гена SOD2 с активностью СОД. Показано, что при генотипе ТТ полиморфизма C47T гена SOD2 отмечается статистически значимое снижение активности СОД по сравнению с генотипом СТ ($p=0,010$, U-критерий Манна-Уитни); генотип СС - не оказывает влияние на активность СОД.

Между генотипами ТТ и СТ полиморфизма T58C и активностью СОД не было выявлено взаимосвязи. Генотип СС полиморфизма T58C встретился, в данном исследовании, только в 1 случае, поэтому судить о влиянии данного генотипа на активность СОД не представилось возможным.

При рассмотрении взаимосвязи между различными генотипами полиморфизма G262A гена CAT и ферментативной активностью каталазы не было обнаружено статистически значимых различий.

Таким образом, отмечено снижение активности СОД в эритроцитах крови условно здоровых добровольцев при генотипе ТТ полиморфизма C47T гена SOD2 по сравнению с генотипом СТ. Полученные результаты, в дальнейшем, могут быть применимы для выявления групп риска и предупреждения развития различных заболеваний среди жителей Нижегородской области.

# ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ $CaCO_3$ В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ КОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

***Д. Б. Трушина*[1, 2], *Т. Н. Паллаева*[2], *А. В. Михеев*[2], *И. А. Бурмистров*[2], *Т. В. Букреева*[2]**

[1]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2; *trushina.d@mail.ru*

[2]ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59

Положительные результаты терапии различных заболеваний в значительной степени зависят от возможности осуществлять доставку препаратов в целевой орган и ткань. Для снижения вводимой в организм дозы препаратов и увеличения его локальной концентрации перспективным представляется введение активных веществ в составе контейнеров, в качестве которых могут использоваться пористые микро- и наночастицы карбоната кальция. Карбонат кальция представляет собой наиболее распространенный биогенный минерал, встречающийся в природе в нескольких кристаллических модификациях. Среди его полиморфов благодаря пористой структуре частиц выделяется метастабильный ватерит, способный физически сорбировать молекулы различной природы, сохраняя их биологическую функцию.

В данной работе проанализировано влияние условий кристаллизации частиц карбоната кальция на комплекс их характеристик – размер и форму, полиморфную композицию, пористость. Были подобраны оптимальные условия для зародышеобразования и роста частиц, при которых формируются монодисперсные частицы ватерита размером от 70 нм до 5 мкм, обладающие пористостью порядка 40%. Оптимизирована загрузка субмикронных частиц ватерита противораковыми агентами, которая для хлорина е6, доксорубицина и порфиразина составила 3, 7 и 9 вес.%, соответственно.

На основе микронных и субмикронных частиц ватерита сформированы контейнеры для интраназальной доставки в центральную нервную систему центрального анестетика лоперамида и анксиолитического препарата золпидема, максимальная загрузка которых в частицы составила 1 и 13 вес.%, соответственно. В экспериментах *in vivo* продемонстрировано, что интраназальное введение этих веществ в составе контейнеров на основе ватерита позволяет достичь терапевтического эффекта за счет продолжительного удержания системы на обонятельном эпителии, а также позволяют предохранить лекарственное соединение от ферментативного расщепления в назальной полости.

Разработанные частицы ватерита также протестированы для окулярной доставки офтальмологического препарата. Внедрение в микронные частицы эналаприлата (загрузка составила 4-5 вес.%) позволило увеличить его биодоступность и получить более выраженное снижение внутриглазного давления у животных при окулярном введении в сравнении с введением без частиц.

Авторы выражают благодарность группам Н.В. Гуляевой (Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН), В.З. Шириняна (Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН), Г.И. Ковалева (НИИ фармакологии имени В.В. Закусова), О.А. Кост (МГУ им. М.В. Ломоносова), О.В. Безнос (НМИЦ Глазных болезней им. Гельмгольца).

*Работа в части кристаллизации частиц выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-74-10058. Грант РНФ № 21-74-10058.*

# СПОСОБНОСТЬ К КАЛЛУСОГЕНЕЗУ *IN VITRO* РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

***Н. А. Трушина, А. А. Печерина, А. А. Брилкина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*t.natalia4@mail.ru*

Однодольные растения, в частности, пшеница представляют большой научный и хозяйственный интерес. Особенности культивирования *in vitro* однодольных растений отличаются от двудольных, прежде всего тем, что микроклональное размножение требует получение каллусных клеток. Известно, что разные сорта одного вида растений проявляют различную способность к каллусо- и органогенезу, что обусловлено их разной чувствительностью к компонентам питательных сред, прежде всего фитогормонам и их синтетическим аналогам. Поэтому важен подбор состава среды для каждого конкретного сорта. Целью данной работы является подбор эффективных концентраций фитогормонов и источника углевода в питательной среде для индукции каллусов *in vitro* различных сортов пшеницы.

Работу проводили на мягкой яровой пшенице (*Triticum aestivum,* L.) 9 сортов: Астрид, Дарья, Злата, Ирень 2, Новосибирская 16, Сударыня, Ульяновская 105, Зауральская волна и Happy. В качестве эксплантов использовали зрелые зародыши, которые выделяли из зерновок. Зародыши культивировали на среде Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением 30 г/л сахарозы или мальтозы. В качестве индукторов каллусогенеза в среду добавляли ауксин 2,4-Д 2.5 мг/л, и его заменители: дикамбу 12 мг/л, даминозид 25 мг/л, а также совместно 2.4-Д 2.5 мг/л с даминозидом 25 мл/л или дикамбу 12 мг/л с даминозидом 25 мг/л. Зародыши пшеницы культивировали 14 дней в чашках Петри в темноте при температуре 24 0С.

Наибольшее количество каллусов (до 73%) образовывалось из зародышей пшеницы сортов Ирень 2 и Злата на среде МС с сахарозой с добавлением 12 мг/л дикамбы, однако, при добавлении в питательную среду мальтозы процент каллусогенеза снижался до 60 для сорта Злата. Похожие значения (70%) были получены из зародышей пшеницы сорта Happy на среде МС с сахарозой и одновременным добавлением 2.5 мг/л 2.4-Д и 25 мг/л даминозида, в то время как на этой среде с мальтозой процент каллусогенеза снижался до 57. Также, были выявлены наименее эффективные сорта, такие как Сударыня и Зауральская волна, которые давали наименьшее количество каллусов (до 27 и 47% соответственно). Кроме того, было выявлено, что при добавлении в среду МС как с сахарозой, так и с мальтозой только одного 25 мг/л даминозида зародыши всех сортов пшеницы прорастали и не давали каллусов.

Таким образом, из девяти использованных нами сортов мягкой яровой пшеницы наибольшую способность к каллусогенезу зрелых зародышей проявляют сорта Ирень 2, Злата и Happy. Для эффективной индукции каллусов из зародышей сорта Ирень 2 и Злата целесообразно использовать питательную среду МС с сахарозой в присутствии 12 мг/л дикамбы, в то время как для сорта Happy добавлять фитогормоны 2.5 мг/л 2.4-Д и 25 мг/л даминозида.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-14-00388.*

# ВЛИЯНИЕ АПИТОКСИНА И ГИПЕРТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ В ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

***З. В. Туктарова*, *М. А. Шабалин*, *П. А. Попова*, *Д. С. Петров*, *Д. А. Нефёдова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*tuktarovaz@inbox.ru*

Известно, что в нормальных условиях функционирования во всех клетках процессы перекисного окисления липидов протекают на низком уровне, контролируемые мощной антиоксидантной системой, противодействующей процессам запуска и развития свободнорадикальных реакций. Сдвиг про/антиоксидантного равновесия в сторону усиления прооксидантной составляющей приводит к оксидативному стрессу, который может запустить опухолевый рост, приводящий к изменению функционирования антиоксидантной системы. Важная роль в защите клеток и тканей от окислительного стресса отводится работе ферментов этой системы, в частности каталазы. Печень является многофункциональным органом, играющим ведущую роль в детоксикации, исследование в нём активности каталазы при злокачественном росте представляет особый интерес. Целью работы явилось исследование изменения активности каталазы в печени крыс-опухоленосителей при совместном действии апитоксина и гипертермии.

В эксперименте использовали крыс-опухоленосителей линии Вистар. Опухолевый штамм РС-1, полученный из РОНЦ им. Н.Н. Блохина перевивали подкожно в паховую область, спустя 14 суток животных вводили в эксперимент. В качестве контрольной группы брали крыс-опухоленосителей с введением 0,5 мл/кг веса животного физиологического раствора. Для увеличения адаптационных возможностей к гипертермии использовали раствор яда пчелы медоносной, вводившийся внутрибрюшинно в дозе 0,5 мг/кг веса животного при каждом воздействии, в качестве растворителя использовался физиологический раствор. Гипертермию проводили в термокамере с автоматической стабилизацией температуры. Животных нагревали до достижения ректальных температур 42, 43 и 44±0,5°С в течение 7 суток. Исследовали изменения активности каталазы в тканях печени, извлеченной из крысы на 1, 7, 14 и 28 сутки после терапии. Статистическую обработку результатов проводили по критерию Стьюдента.

Установили повышение активности каталазы в группах, которых подвергали сочетанному воздействию гипертермии и пчелиного яда: при экспозиции 42°С на 1 сутки — на 174%; на 7 сутки — на 265%; на 14 сутки — на 80%; на 28 сутки — на 347% по сравнению с контролем; при экспозиции 43°С на 1 сутки — на 165%; на 7 сутки — на 34%; на 14 сутки — на 10%; на 28 сутки – на 537%; при экспозиции 44°С наблюдалось понижение активности каталазы на 7 и 14 сутки — на 49% и 5% соответственно по сравнению с контролем. Наибольшее увеличение активности каталазы наблюдали при сочетанном воздействии гипертермии 42°С и пчелиного яда, понижение — при отдельном воздействии гипертермии 44°С (более 80%). Таким образом, исходя из вышеизложенного, возможно терапевтическое применение синергетического действия пчелиного яда и гипертермии при злокачественных образованиях.

# ОЦЕНКА УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ АССОЦИИРОВАННЫХ СО СТАРЕНИЕМ CPG У БОЛЬНЫХ С ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

***Т. В. Тулупова*, Е. А. Давыдова, А. Д. Перенков, М. В. Ведунова**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*tulupowa.tanja@yandex.ru*

Старение тесно связано с изменением ДНК-метиломных паттернов. В геноме человека находятся CpG-динуклеотиды, уровень метилирования которых заметно коррелирует со старением и позволяет определять биологический возраст. Из литературных данных известно, что люди с почечной недостаточностью, жизнедеятельность которых поддерживается за счет гемодиализа, имеют профиль метилирования, характерный для ускоренного старения. В связи с этим, целью работы явилось сравнение статуса метилирования связанных с возрастом CpG между здоровыми донорами и испытуемыми с почечной недостаточностью.

Материалом для исследования явились образцы периферической крови 20 здоровых испытуемых и 5 больных, проходящих гемодиализ. Выделение ДНК проводили при помощи набора ДНК-ЭКСТРАН-1 (Синтол, Россия). После ДНК подвергали бисульфитной конверсии по протоколу EZ-96 DNA Methylation™ Kit (Zymo Research, США). Далее амплифицировали фрагменты ДНК, включающие исследуемые CpG, используя набор PCR Reagent Kit (Agena Bioscience, США). Результаты ПЦР визуализировали с помощью гель-электрофореза. Затем очищали образцы от оставшихся свободных dNTP, используя щелочную фосфатазу креветки (SAP), проводили iPLEX-реакцию. После продукты анализировали на масс-спектрометре при помощи MassARRAY (Agena Bioscience, США). Статистический анализ данных проводили с использованием критериев Манна-Уитни и ранговой корреляции Спирмена.

Для здоровых испытуемых у следующих CpG была выявлена связь со старением: cg22454769 (r=0,59), cg07547549 (r=0,55), cg06639320 (r=0,61), cg07553761 (r=0,65). Для cg11649376, cg16008966, cg14556683, cg08262002, cg01620164, cg23500537 и cg00481951 корреляции с возрастом найдено не было. Общий уровень метилирования CpG, для которых была определена зависимость с возрастом, составил 41,1 (31,6;50,0) % и 40,4 (32,1;50,0) % для здоровых и больных испытуемых соответственно. Отличий между группами обнаружено не было. При этом метилирование cg22454769 доноров с почечной недостаточностью превышает таковое относительно здоровых в 1,5 раза. Остальные CpG не отличаются по степени метилирования между исследуемыми группами. Полученные данные могут быть связаны с использованием малой выборки или обусловлены спецификой течения заболевания. Таким образом, результаты показывают, что пациенты с почечной недостаточностью имеют повышенный уровень метилирования cg22454769.

*Работа проведена при поддержке программы Правительства Российской Федерации «Приоритет-2030».*

# ТАРГЕТНАЯ ДОСТАВКА АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ, ОПОСРЕДОВАННАЯ МАКРОФАГАМИ, НА ПРИМЕРЕ МОДЕЛИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ ЧЕЛОВЕКА

***К. А. Тулякова*[1], *Е. Л. Гурьев*[1], *А. Б. Воловецкий*[2], *О. А. Синдеева*[3], *Д. К. Баушева*[1], *Н. И. Филяева*[1], *И. В. Балалаева*[1], *А. В. Звягин*[2], *Н. Ю. Шилягина*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*tulyakova.ksenia@gmail.com*
[2]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2
[3]Сколковский институт наук и технологий, 121205, Москва, Большой бул., 30/1

Высокая селективность накопления нанопрепаратов во внутрибрюшинных опухолевых очагах в случае перитонеальной инъекции наводит на мысль об опосредовании транспорта наночастиц в опухоль. Одними из возможных носителей могут являться макрофаги, обильно выстилающие перитонеальную полость.

Ранее нами была проведена оценка биораспределения антистоксовых нанофосфоров (НАФ) и тераностических нанокомплексов на основе НАФ и таргетного иммунотоксина DARPin-LoPE в тканях и органах мышей-опухоленосителей с внутрибрюшинной моделью рака яичника человека, экспрессирующей красный флуоресцентный белок TurboFP635 (Katushka). Нами было зарегистрировано высокоселективное накопление в опухоли ненаправленных НАФ и направленных комплексов НАФ-DARPin-LoPE с длительным удержанием в опухоли в течение 72 часов с момента введения по сравнению со здоровыми органами и тканями. Предполагаемым механизмом избирательного накопления является эффект захвата наночастиц макрофагами, находящимися в перитонеальной полости, и их последующий перенос в опухолевый очаг. Целью настоящей работы было оценить участие макрофагов М1 и М2 в перитонеальной доставке антистоксовых нанофосфоров на примере модели рака яичников человека.

В ходе работы популяция макрофагов была выделена из перитонеальной полости мыши линии Balbc/nude с последующим окрашиванием витальным красителем Nile Red для флуоресцентной визуализации клеток в экспериментах in vitro и in vivo. Для доказательства причастности исследуемых клеток к макрофагальному типу было проведено их окрашивание антителами на фенотипы макрофагов М1 и М2, а также общим антителом, окрашивающим оба фенотипа клеток. Проведена оценка эффективности захвата НАФ макрофагами и эффективности накопления макрофагальных клеток в модели рака яичника человека SKOVip. Показано, что макрофаги спустя 1 час после инкубации с НАФ эффективно поглощают частицы. В случае окраски общим антителом на оба фенотипа макрофагов (М1/М2) – окрашивались практически все клетки, что доказывает причастность рассматриваемых клеток к макрофагальному типу.

В эксперименте *in vivo* по оценке накопления макрофагов в опухоли было показано эффективное проникновение макрофагальных клеток в опухолевую ткань спустя 6 часов после внутрибрюшинной инъекции окрашенных макрофагов животным. Результаты позволяют сделать вывод о возможной причастности макрофагов в доставке лекарственных препаратов в опухоль.

Таким образом, на модели перитонеального рака яичника человека было показано, что макрофаги могут являться потенциальными транспортерами НАФ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» ННГУ (Проект № Н-417-99_2022-2023).*

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КРИОПРОТЕКТОРОВ РАЗЛИЧНЫХ СОСТАВОВ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ БАКТЕРИЙ ПОРЯДКА *ENTEROBACTERALES* ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ -20°С

***А. И. Тютрина*[1, 2], *П. А. Журилов*[1], *Д. Д. Кашина*[1, 2]**

[1]ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3; *atutrina0@gmail.com*

[2]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Одной из практических задач бактериологии является сохранение вновь выделенных изолятов бактерий в рабочей коллекции до этапа их исследования и помещения штаммов в коллекцию микроорганизмов. Штаммы в рабочих коллекциях должны сохранять свою жизнеспособность и исходные свойства. Методы непродолжительного хранения не позволяют этого достичь, а хранение при сверхнизких температурах доступно не во всех лабораториях. Для выполнения данных условий возникает необходимость оптимизации условий криоконсервации, обеспечивающей долгосрочное хранения рабочих коллекций микроорганизмов.

Цель работы: оценка эффективности криоконсервации бактериальных культур порядка *Enterobacterales* при температуре -20°С с применением криопротекторов различных составов.

Были протестированы криопротекторы следующих групп: обогащенные с глицерином (криопротектор №1) и обогащенные с глицерином и диметилсульфоксидом (ДМСО) (криопротектор №3), необогащенные с глицерином (криопротектор №4) и необогащенные с ДМСО (криопротектор №2). Для исследования были отобраны 15 штаммов бактерий, принадлежащих к порядку *Enterobacterales*.

В ходе эксперимента бактериальные культуры для криоконсервации были подготовлены следующим путем: бактериальные суспензии $10^8$ КОЕ/мл центрифугировали с последующим ресуспендированием осадков в различных криопротекторах. Перед криоконсервацией пробы эквилибрировали в течение 30 минут при температуре 4±2 °С. Замораживание культур с криопротектором проводили при -20±2 °С. Восстановление замороженных клеток осуществляли быстрым оттаиванием при температуре 37±2 °С в течение 3 минут и слабом встряхивании. Методом подсчета колониеобразующих единиц на чашках Петри определяли концентрацию бактерий в криопротекторе.

Результаты проведенных исследований показали, что все 15 штаммов сохранили свою жизнеспособность после 8 месяцев хранения в криопротекторах №1, №2, №3. В криопротекторе №4 наблюдалось полное отмирание двух культур: *Citrobacter braakii* (ML-49), *C. freundii* (ML-60). Процент выживаемости составил: в криопротекторе №1 − 94,89%, в криопротекторе №2 − 92,97%, в криопротекторе №3 − 86,29%, в криопротекторе №4 − 54,07%.

Таким образом, обогащенный криопротектор №1 являлся максимально эффективным для хранения бактериальных культур порядка *Enterobacterales* при температуре -20±2 °С в течение 10 месяцев. Обогащенный криопротектор №1 содержал глицерин в качестве основного компонента.

# ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ МОЛОКА И ПОЛУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ НА ИХ ОСНОВЕ С ДОБАВЛЕНИЕМ МОДИФИЛАНА

***В. М. Удалова***
Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, 430005, Саранск, ул. Большевистская, 68; *ydlvm@mail.ru*

Функциональное питание – продукты питания, которые посредством добавления определенных пищевых ингредиентов изменяются таким образом, что они начинают приносить специфическую пользу. Функциональные продукты можно разделить на: 1) обычную пищу, содержащую природное биоактивное вещество (β-глюкан в овсяных отрубях, помогающий снизить уровень холестерина в крови) и 2) пищевые продукты, модифицированные путем обогащения или другими способами средства, с биологически активными веществами (маргарин, который содержит добавленный фитостерол, снижающий уровень холестерина в сыворотке крови). Сывороточные белки широко используются в качестве функциональных ингредиентов.

Модифилан представляет собой концентрированный экстракт бурых водорослей ламинарии. Клеточная стенка бурых водорослей (Phaeophyta) имеет фибриллярный участок, образованный микрофибриллами целлюлозы, в которую встроены кислые полисахариды, связанные между собой белком. Кислотные полисахариды в основном состоят из фукоиданов (сульфатированных фуканов) и альгиновой кислоты, которые придают водорослям структурную прочность и гибкость. Специальная технология получения, позволяет сохранить и не дает насыщаться препарату какими-то посторонними компонентами. Модифилан является источником ряда микро- и макроэлементов, витаминов. Йод является незаменимым микроэлементом, его ежедневное потребление с пищей имеет большое значение для сохранения здоровья, так как организм человека не способен вырабатывать и накапливать йод. Он участвует в биосинтезе гормонов щитовидной железы: тироксина и трийодтиронина, которые необходимы для поддержания нормального гормонального фона. Направляет процессы терморегуляции организма на поддержание постоянной нормальной температуры, участвует в обменных процессах, энергетическом, жировом-белковом обмене, нормализует работу нервной эндокринной системы в организме, отвечает за рост, развитие мышечной ткани, опорно-двигательного аппарат.

Ведущим механизмом антиэкотоксического действия модифилана является адсорбция, в результате чего модифилан относится к классу сорбентов. Пектиновые вещества препарата, в том числе альгиновая кислота, обладают антидотной активностью в отношении радионуклидов (стронций, цезий, йод) и солей тяжелых металлов. Основной механизм действия альгинатов – связывание токсических веществ в желудочно-кишечном тракте с последующим выведением их с калом. Клетчатка водорослей модифилан стимулирует моторную функцию пищеварения, улучшает обмен веществ, выполняет транспортную функцию по отношению к токсическим продуктам распада. Модифилан может обладать свойством останавливать действие иммунодепрессантов, к которым относится лучевая терапии. Биологически усвояемое железо, входящее в состав модифилана, восстанавливает синтез цитохром-оксидаз.

# ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ НА ПОВЕДЕНИЕ И СЕРОТОНИНОВУЮ СИСТЕМУ МОЗГА МЫШЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

***У. С. Устинова***
Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*uustinova01@gmail.com*

Серотониновая (5-НТ) система участвует в регуляции многих типов поведения. Длительная социальная изоляция может приводить к подавлению функциональной активности 5-НТ системы, активации нейровоспалительных процессов, вызывая различные нарушения поведения. С другой стороны, провоспалительный цитокин фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF) способен влиять на синтез серотонина, а нокаут гена Tnf изменяет показатели исследовательского и депрессивно-подобного поведения.

Целью работы было изучить эффект длительной социальной изоляции на поведение и 5-НТ систему мозга у мышей с нокаутом гена фактора некроза опухоли. Эксперименты проводили на самцах линии с нокаутом гена Tnf (TNF KO) и родительской линии C57BL/6 (дикий тип). Мыши каждой линии были разделены на две группы: контроль (содержание в группах) и опыт (содержание в изолированных клетках в течение шести недель). Поведение оценивали в тестах «открытое поле», «трёхкамерный тест» и «принудительное плавание». Экспрессию генов оценивали в структурах мозга мышей методом ОТ-ПЦР реального времени. Уровни серотонина и его метаболита 5-ГИУК измеряли с помощью ВЭЖХ. Результаты обрабатывали двухфакторным дисперсионным анализом с последующим множественным сравнением по Фишеру.

Двигательная активность животных не различалась между группами. У мышей линии TNF KO социальная изоляция привела к снижению исследованной площади арены ($p=0.006$), а также повышению такого показателя тревожного поведения, как продолжительность умываний в тесте «открытое поле» ($p=0.046$). В то же время у мышей дикого типа одиночное содержание способствовало снижению предпочтения социального объекта в трехкамерном тесте ($p=0.002$). Также Социальная изоляция привела к падению экспрессии гена триптофангидроксилазы 2 в среднем мозге у мышей дикого типа ($p=0.025$) и к повышению экспрессии гена рецептора 5-НТ1А в этой структуре у животных с нокаутом ($p=0.044$). Только нокаутные мыши демонстрировали снижение содержания 5-НТ в гиппокампе вследствие действия изоляции ($p=0.037$), уровни нейромедиатора и его метаболита 5-ГИУК во фронтальной коре и среднем мозге не различались между группами мышей обеих линий.

Полученные результаты демонстрируют, что нокаут гена Tnf модулирует эффекты длительной социальной изоляции у мышей на поведение и 5-НТ систему мозга.

*Работа поддержана грантом РНФ 21-15-00051.*

# ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ *CARASSIUS GIBELIO* В ВОДОЕМАХ СИБИРИ И ПРИАМУРЬЯ

***Я. А. Уткин***

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2; *utkinyaroslav99@gmail.com*

Серебряный карась (*Carassius gibelio*) является одним из наиболее широко распространённых видов рыб Евразии. Такое широкое распространение объясняется его способностью легко натурализоваться в местах интродукции и замещать аборигенные формы, вследствие чего данный вид считается инвазивным во многих европейских странах.

Границы ареала и генетическое разнообразие карася на территории России остаются не до конца изученными. Исследование молекулярно-генетических характеристик популяций, населяющих территории Сибири и Приамурья, позволят сформировать основу, необходимую для более эффективного мониторинга распространения данного вида.

В данном исследование впервые было описано генетическое разнообразие популяции серебряного карася, населяющего водоемы Восточной Сибири и бассейна среднего течения р. Амур. Секвенирование контрольного района митохондриальной ДНК показало, что такие крупные реки, как Амур, Лена, Колыма, Яна, Анабар, Оленёк, населены особями серебряного карася, имеющими 12 различных гаплотипов, причем 7 из них были обнаружены нами впервые. Методами филогенетического анализа было установлено, что гаплотипы, обнаруженные в Восточной Сибири объединяются в одну кладу, являющуюся базальной по отношению ко всем ранее описанным кладам серебряного карася.

Филогеографический и сравнительный анализ популяций Западной Сибири и Приамурья показал, что в них наблюдается высокое генетическое разнообразии, а также отсутствие между ними изолированности, что, с большой вероятностью, может являться последствием ведения интродукционных работ по зарыблению Западной Сибири рыбой из р. Амур в 70-х годах, и может указывать на замещение нативных карасей амурскими формами. В восточносибирской популяции, наоборот, наблюдается высокая степень изолированности от других исследованных популяций и низкое генетическое разнообразие, что в совокупности с характерными для данной территории условиями абиотической среды может указывать на то, что представители данной популяции могут обладать рядом функциональных отличий, вызванных отбором к экстремальным абиотическим условиям.

# ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* К ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

***М. С. Федорова*, *А. Р. Каюмов*, *Е. Ю. Тризна***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*masfedorova97@mail.ru*

На сегодняшний день более 80% инфекционных заболеваний во всем мире связано с быстрым развитием бактериальной антибиотикорезистентности, вызванной способностью бактерий к формированию биопленок. Биопленки обладают различными механизмами толерантности, тем самым снижая эффективность антибиотиков против патогенных бактерий. В настоящее время одним из наиболее распространенных условных патогенов и причиной широкого спектра внутрибольничных инфекций является *Pseudomonas aeruginosa*. Было показано, что чувствительность *P. aeruginosa* к антибиотикам широкого спектра действия повышается в составе смешанной культуры *Staphylococcus aureus – P. aeruginosa*. Вероятно, это обусловлено действием метаболитов *S. aureus*. Для подтверждения данной гипотезы на первом этапе оценивали синергизм культуральной жидкости (КЖ) *S. aureus* с антибиотиками широкого спектра действия в отношении клеток *P. aeruginosa*. Было показано, что присутствие КЖ *S. aureus* повышало эффективность антибиотика в отношении клеток *P. aeruginosa* и проявляло доза-зависимый эффект.

Известно, что повышение чувствительности клеток *P. aeruginosa* в составе биопленок к антибиотикам широкого спектра действия может быть обусловлено изменением метаболизма клеток или структуры биопленки. В биопленках *P. aeruginosa* основными полисахаридами матрикса являются Pel и Psl, выполняющие каркасную функцию. Посредством полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией оценивали экспрессию генов pelA, pslA в клетках *P. aeruginosa* до и после добавления КЖ *S. aureus*. В результате экспрессия генов pelA, pslA в клетках *P. aeruginosa* значительно увеличивалась после внесения КЖ *S. aureus*, что, вероятно, обусловлено реакцией бактерий P. aeruginosa на антимикробные компоненты КЖ стафилококка, которые способствуют гиперпродукции полисахаридов биопленки *P. aeruginosa.* Подобный эффект в отношении клеток *P. aeruginosa* наблюдали при оценке изменения структуры и состава зрелых биопленок после добавления КЖ *S. aureus*. Окрашивание биопленки *P. aeruginosa* показало, что внесение КЖ к зрелой биопленке *P. aeruginosa* приводило к двукратному снижению всей биомассы биопленок. При этом анализ биохимического состава матрикса показал значительное увеличение β-полисахаридов и белков по сравнению с контрольными образцами. Микроскопия подтвердила данные биохимического анализа внеклеточного матрикса, а также позволила оценить распределение компонентов в структуре биопленок *P. aeruginosa*.

Таким образом, внесение КЖ стафилококка способствует разрушению биопленок *P. aeruginosa* и изменению состава и структуры остаточной биопленки, что приводит к повышению ее проницаемости для антимикробных препаратов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 20-64-47014).*

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ГАЗА-НОСИТЕЛЯ НА НЕКОТОРЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ГЕЛИЕВОЙ И АРГОНОВОЙ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ

***А. С. Федотова*[1], *А. В. Суровегина*[1, 2], *А. Н. Тужилкин*[1], *И. В. Бочарин*[1, 2], *А. К. Мартусевич*[1, 2]**

[1]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *as20797@mail.ru*

[2]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Одним из наиболее активно изучаемых эффектов в последние годы является холодная плазма – четвертое состояние вещества, представляющее собой ионизированный газ. Благодаря ионизации плазма приобретает особые свойства и характеристики, позволяющие реализовать ее биологическую активность. В настоящее время определены многочисленные области медицинского применения холодной плазмы, включая хирургию, дерматологию и косметологию, онкологию и др. В то же время для каждой из этих областей медицины значимы различные механизмы и эффекты фактора: антибактериальная активность, влияние на апоптоз, прорегенеративные свойства и т.д.

Целью исследования было изучение реакции свободнорадикальных процессов и антиоксидантной системы в эритроцитах крыс на курсовое применение гелиевой и аргоновой холодной плазмы. Первая группа крыс (n=10) была интактной, с ней не проводили никаких манипуляций. Крысы второй и третьей групп (n=10 в каждой) получали ежедневную обработку предварительно эпилированной задней поверхности (площадь - 4 см2) потоком гелиевой и аргоновой холодной плазмы соответственно. Продолжительность каждой лечебной процедуры составляла 1 минуту, курс включал 10 процедур. В эритроцитах животных изучали перекисную резистентность, концентрацию малонового диальдегида и активность ряда ферментов (альдегиддегидрогеназы, супероксиддисмутазы и каталазы). Было обнаружено, что наружное применение холодной плазмы значительно трансформирует окислительные процессы и антиоксидантные ферменты эритроцитов, и этот эффект специфичен относительно используемого газа-носителя. Выявлено, что курс обработки поверхности кожи спины крыс гелиевой холодной плазмой способствует ограничению интенсивности свободнорадикальных процессов в мембранах эритроцитов, происходящих на фоне умеренной (физиологической) стимуляции активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы). Напротив, аргоновая холодная плазма, используемая в аналогичном режиме, действует как активатор перекисного окисления липидов в клетках крови, что сопровождается выраженной дезадаптивной интенсификацией каталитических свойств антиоксидантных ферментов эритроцитов.

*Исследование поддержано грантом РНФ № 22-25-00652.*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НЕЙРОГИБРИДНОЙ ЗАМКНУТОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ РАДИОТЕХНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАТОРА ФИТЦХЬЮ-НАГУМО И ЖИВЫХ ПЕРЕЖИВАЮЩИХ СРЕЗОВ ГИППОКАМПА МЫШИ

***А. А. Федулина*, М. В. Матвеева, А. В. Бельтюкова, К. Е. Мальцева, С. А. Герасимова, А. В. Лебедева**

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*fedulina@neuro.nnov.ru*

В настоящее время при лечении нейродегенеративных заболеваний, которые плохо поддаются медикаментозной терапии, производят электрическую стимуляцию мозга посредством инвазивного вмешательства в поврежденные структуры нервной ткани. Разработка и развитие инвазивных технологий нейронных интерфейсов с замкнутым контуром позволили добиться больших успехов в восстановлении нейронных связей, поскольку имеют более тонкую и четкую настройку стимуляции, реагирующие на изменения физиологического состояния, что важно в процессе восстановления функций нервной ткани. Достижения в этих областях открывают перспективы для лечения широкого спектра заболеваний двигательной системы и нейродегенаритивных заболеваний мозга.

В данном исследовании использовалась нейрогибридная замкнутая система, состоящая из радиотехнического генератора ФитцХью-Нагумо и живых переживающих срезов гиппокампа мозга мыши. Для приготовления переживающих срезов гиппокампа использовались половозрелые самцы возрастом 2-3 месяца линии мышей C57BL/6. Для приготовления и инкубирования срезов гиппокампа использовался раствор искусственной спинномозговой жидкости (ACSF), составом в (мМ): 126 NaCl; 3.5 KCl; 1.2 $KH_2PO_4$; 26 $NaHCO_3$; 1,3 MgCl * $6H_2O$; 2 $CaCl_2$ * $6H_2O$; 10 D-глюкоза при постоянном насыщении карбогеном (95% $O_2$ и 5% $CO_2$). Регистрация электрической активности нейронов мозга проводилась с использованием оптических и электрофизиологических методов.

В экспериментах по сопряжению нейроноподобного генератора ФитцХью-Нагумо и биологических нервных клеток в замкнутом контуре, был получен эффект, когда активность нервных клеток мозга переключала генератор в автоколебательный режим. Вызванные колебания в нейроподобном генераторе давали эффективный стимул для активации нервных волокон в составе перфорантного пути гиппокампа. В результате, удалось зафиксировать уменьшение частоты импульсов генератора, что было спровоцировано реакций живых нейронов на приходящий стимул с нейроподобного генератора. Данные результаты показывают способность живых нейронных сетей управлять искусственным сигналом с помощью подстройки его параметров изменением собственной активности и подтверждают работоспособность использования систем с замкнутым контуром при объединении живых и искусственных нейронов. Настоящее исследование требует дальнейших экспериментов для создания более физиологичных условий функционирования предложенной нейрогибридной системы. Успехи в этом направлении помогут решить актуальную проблему восстановления утраченных функций мозга на клеточном и сетевом уровнях.

*Исследование выполнено в рамках проекта «Исследование и разработка нейроморфных и нейрогибридных систем искусственного интеллекта» (Договор № 96-2022/181 от 13.07.2022 в рамках научной программы Национального центра физики и математики (направление «Искусственный интеллект и большие данные в технических, промышленных, природных и социальных системах»).*

# META-ANALYSIS OF THE IMPACT OF COLD WATER IMMERSION AFTER EXERCISE ON FATIGUE RECOVERY AND EXERCISE PERFORMANCE

***X. Feiyan*, *A. V. Kabachkova***
Tomsk State University, 634050, Tomsk, Lenina Ave., 36; *xiaofeiyan1223@gmail.com*

Cold water immersion (CWI) is currently more popular in training and competing. Studies have shown that CWI reduces post-exercise muscle stiffness, eliminates fatigue, decreases exercise-induced muscle damage, and improves athletic performance. Furthermore, athletes can accomplish more work in subsequent exercise after CWI. To determine the physiological mechanisms of CWI intervention and the possibility of it as an external relaxation tool during sports competitions, the effects of CWI intervention on sports fatigue and injury, as well as exercise performance after high-intensity exercise, were examined in this review. This meta-analysis collected the English-language literature from 2002 to 2022 using the keywords 1) cold water immersion (CWI) OR cooling OR ice bath; 2) exercise performance OR sports performance; 3) fatigue OR recovery. The required indicators mainly include delayed onset muscle soreness (DOMS) and ratings of perceived exertion (RPE), which are generally seemed as subjective recovery characteristics. Countermovement jump (CMJ), the release of creatine kinase (CK), lactate, and lactate dehydrogenase (LDH) in plasma, IL-6, and C-reactive protein (CRP), which has been seemed like objective recovery characteristics. Present studies indicate that CMJ immediately and 24h after CWI are significantly different from that in the CON group; However, there was significant heterogeneity in the data at 24h (I2=86%), so a random effects model was used. Hence there was no significant difference in the CMJ between the CWI and CON groups at 24h. DOMS levels in the CWI group were significantly lower than those in the CON group at 0h, 24h. Heterogeneity was found between the literature at 24 and 48h (24h: I2=67%; 48h: I2=66%), and hence the random effects model was chosen. The results showed that post-exercise CWI intervention was effective in reducing DOMS immediately, but not for prolonged periods of time (24h, 48h). There was a significant difference in RPE between the CWI and CON groups at 0h. CK levels significantly lower at 24h after the CWI intervention than after passive recovery. Significant differences in lactate indicators between the CWI and CON groups at 24 and 48h after intervention. There was no significant difference in CRP and inflammatory markers (IL-6) at 0, 24, or 48h. Subjective sensations seemed to recover immediately, as did objective biochemical markers such as CK and lactate after 24h when CWI intervention has been used. Furthermore, CWI significant reduced exercise performance immediately.

# ОЦЕНКА БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ (ИР-10) НА *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

***К. М. Фиайос Баррионуэво*, *О. Ю. Меженина*, *И. П. Иванова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kami_fiallos96@hotmail.com*

*Staphylococcus aureus* представляет собой грамположительную кокковую бактерию, которая населяет кожу и носовую полость здоровых людей, не вызывая серьезных проблем, однако, если эта бактерия попадает в кровоток, она может вызывать серьезные инфекции, поражающие в основном кости, суставы, легкие и сердце, вплоть до смерть. Кроме того, это одна из основных бактерий, вызывающих внутрибольничные инфекции, благодаря высокой способности колонизировать операционный материал. Ранее эти инфекции лечили антибиотиками, вызывающими хороший бактерицидный эффект, однако в последние годы эти бактерии приобрели антибиотикорезистентность, поэтому лечение является важной проблемой общественного здравоохранения. Столкнувшись с этой проблемой, возникает необходимость разработки новых методов лечения. Газоразрядная плазма имеет множество биологических и медицинских применений из-за ее способности инактивировать биологические патогены. Поэтому целью исследования явилась оценка бактерицидного действия излучения газоразрядной плазмы и дистиллированной воды обработанной излучением газоразрядной плазмы в отношении золотистого стафилококка.

Для исследования готовили разведения музейных штаммов патогенных культур *S. aureus* по установленной оптической норме мутности в стерильной дистиллированной воде. Исследование проводилось в два этапа. В первом отбирали аликвоты раствора по 4 мл и обрабатывали генератором плазмы искрового разряда ИР-10 (аппарат) в течение 5, 10, 20 минут соответственно. По 20 мкл каждого обработанного и контрольного образца высевали на мясо-пептонный агар (МПА), разлитый в стандартные чашки Петри. На втором этапе стерильную дистиллированную воду аликвотами по 4 мл обрабатывали ИР-10 в течение 5, 10 и 20 минут соответственно, затем в облученную воду добавляли взвесь стафилококков в соотношении 1:1 и проводили посев на чашки Петри. Все образцы помещали в термостат при 37 °С на 20-24 часа, после чего проводили качественную оценку роста колоний.

Установлено, что после 5 минут обработки излучением плазмы искрового разряда количество обнаруженных колоний уменьшилось на 99% по сравнению с контролем, обработка в течение 10 и 20 минут была летальной для бактерий, так как роста не наблюдалось. С другой стороны, вода, обработанная плазмой в течение 5 минут, вызвала уменьшение количества колоний на 28%, а в образце, обработанном в течение 10 минут, уменьшение составило 72% по сравнению с контролем, оказывая летальное действие при воздействии в течение 20 минут, где не наблюдалось роста бактерий.

Таким образом, излучение плазмы искрового разряда и вода, обработанная излучением, проявляют выраженный бактерицидный эффект, что может быть перспективным методом уничтожения золотистого стафилококка.

# АНАЛИЗ ГЕНОМА ШТАММА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* X5 И ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ СИНТЕЗА ТРЕГАЛОЗЫ И ЭКТОИНА

***А. С. Филиппова*, *С. В. Алферов*, *И. А. Нечаева***
Тульский государственный университет, 300012, Тула, просп. Ленина, 92;
*stasya.filippova.01@gmail.com*

Бактерии, принадлежащие к роду *Rhodococcus*, – идеальные кандидаты для применения в микробной биотехнологии за счет их метаболической универсальности, способности продуцировать соединения, имеющие промышленное значение (каротиноиды, триацилглицериды, полигидроксиалканоаты, такие осмопротекторы как трегалоза и эктоин), устойчивости к различным стрессовым факторам: токсичность металлов, высушивание, высокие концентрации органических растворителей. Способность потреблять широкий спектр субстратов, включающий ксенобиотики, и возможность синтеза различных соединений делает потенциально возможным их использование для решения проблемы эффективного восстановления ценных ресурсов и обеспечения возможных решений по утилизации отходов. Целью работы являлось проведение анализа генома штамма *R. erythropolis* X5 для выявления в нем генов, участвующих в синтезе трегалозы и эктоина.

Для проведения анализа был использован проект генома *R. erythropolis* X5, состоящий из плазмиды pRhX5 и хромосомы и хранящийся в международной базе данных NCBI под номерами доступа GenBank CP044283 для плазмиды pRhX5 и CP044284 для хромосомы.

В результате анализа проекта генома было установлено, что геном состоит из кольцевой хромосомы (длина – 6472161 п.н., содержание GC – 62,31%) и линейной плазмиды pRhX5 (длина – 526979 п.н., содержание GC – 62,42%). Проведение функциональной аннотации показало, что геном содержит большое количество последовательностей, кодирующих ферменты не только общего пути метаболизма, а также участвующие в нетипичных для других прокариот процессах: синтез триацилглицеридов, различных осмопротекторов (трегалозы, эктоина, каротиноидов и др.).

На хромосоме были найдены 5 генов синтеза эктоина (F6X56_RS04750, F6X56_RS04755, ectA, ectB, F6X56_RS21120), три из которых образуют оперон синтеза эктоина (ectA, ectB, F6X56_RS21120) и 15 генов, относящихся к разным путям биосинтеза трегалозы. Синтез трегалозы из глюкозы осуществляется под действием генов otsB (2 копии), F6X56_RS07120, F6X56_RS08650, из гликогена – под действием организованных в оперон treY, treZ, glgX (2 копии), к синтезу из мальтозы и мальтодекстиринов относятся оставшиеся гены glgP, glgB, glgC, glgA, F6X56_RS08750, F6X56_RS21790, F6X56_RS24310.

В результате работы в геноме штамма *R. erythropolis* X5 были обнаружены гены, ответственные за синтез осмопротекторов трегалозы и эктоина, что может говорить о потенциальном применении данного штамма для синтеза данных соединений.

# СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СВОЙСТВА И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЛАНИНОВ, НАКАПЛИВАЕМЫХ ГРИБОМ *INONOTUS OBLIQUUS* ПРИ ИСКУССТВЕННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ И В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ

***Р. В. Хабибрахманова*[1, 2], *А. А. Абржина*[2], *Д. А. Курова*[2], *Е. С. Тасаева*[2], *А. А. Толстых*[2], *А. Г. Хакимова*[2], *Л. Н. Нифантьева*[2], *М. А. Сысоева*[2]**

[1]Казанский институт биохимии и биофизики РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2; *venerakhabirakhmanova@gmail.com*

[2]Казанский национальный исследовательский технологический университет, 420015, Казань, ул. К. Маркса, 68

Меланины – это высокомолекулярные темные пигменты живых организмов. Их высокая биологическая активность обуславливает значительный научно-практический интерес к ним. На сегодняшний день меланины используются в медицине, космецевтике, биоремедиации, биоэлектронике. Базидиальный гриб *Inonotus obliquus* обладает уникальной способностью накапливать значительное количество меланина. Доказано, что он проявляет антиоксидантные, генопротекторные, противоопухолевые, иммуномодулирующие, противовоспалительные, противовирусные, энтеросорбционные свойства. До настоящего времени сырьем для получения лекарственных средств и БАД являются стерильные (бесплодные) наросты гриба на пораженных деревьях, называемые чагой. Однако использование природного сырья, полученного в разных условиях произрастания гриба, не обеспечивает его стандартизации по содержанию и биологической активности меланина. В связи с этим, актуальным является использование биотехнологических методов для искусственного культивирования *I. obliquus*. Это позволит получать сырье с заданным биохимическим составом. Известно, что при искусственном культивировании выращенный мицелий *I. obliquus* содержит меланин, и его физико-химические свойства и биологическая активность в целом сопоставимы с меланином, выделенным из природного сырья. Однако, крайне ограничены данные о супрамолекулярных свойствах меланинов, накапливаемых грибом при искусственном культивировании и в природных условиях. Определение антиоксидантной активности меланинов позволит выявить её взаимосвязь со структурной организацией пигментов.

Цель работы - исследование супрамолекулярных свойств и антиоксидантной активности меланинов, накапливаемых грибом *I. obliquus* при искусственном культивировании и в природных условиях.

Меланины из биомассы гриба и природного сырья (чаги) были выделены по стандартным методикам. С помощью кондуктометрии были определены критические концентрации анализируемых меланинов, при которых происходит изменение их структурной организации. Размер частиц меланинов и их дзета-потенциал был определен методом фотон-корреляционной спектроскопии (ZetaSizer NanoZS, Malvern). Антиоксидантная активность меланинов определена в отношении свободного радикала ДФПГ. Установлено, что меланин из биомассы гриба по сравнению с меланином из чаги образует наноразмерную коллоидную систему, имеющую в 2,3 раза большую электропроводность, и меньшую в 3,5 раза полидисперсность. При этом частицы меланина из биомассы являются менее агрегативно устойчивыми. Несмотря на существенные различия по супрамолекулярным свойствам, меланины из биомассы гриба и чаги обладают близкими значениями антиоксидантной активности. Полученные результаты имеют важное значение для разработки эффективных препаратов на основе меланина гриба *I. obliquus.*

# ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ COVID-19 МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ

***А. Р. Хадиева*, *Е. С. Балымова***

Казанский национальный исследовательский технологический университет, 420015, Казань, ул. К. Маркса, 68; *ilc2013@inbox.ru*

Пандемия COVID-19 в 2020 г. стала неординарным и шоковым явлением для мирового сообщества и глобальной экономики. Для наилучшей эффективности противоэпидемических мероприятий важно подобрать наиболее экономную и информативную систему тестирования, именно таким является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Результаты ПЦР-анализа максимально точны, исключается даже вариант ложноположительного теста. Однако в отношении COVID-19, в силу новизны и недостаточной изученности вируса, точность ПЦР-диагностики составляла в начале эпидемии порядка 80%. На сегодняшний день точность ПЦР-теста составляет 99,6%. Оценка точности и достоверности методов лабораторной диагностики является актуальной и важной задачей современности. Целью исследований являлось выявление особенностей определения возбудителя заболевания COVID-19 методом ПЦР при использовании различных наборов реагентов.

Провели сравнительный анализ применяемых наборов реагентов при определении возбудителя заболевания COVID-19: SARS-CoV-2 Лайт, Проба NK-S, ПОЛИВИР SARS-CoV-2 «Express», «ОТ-ПЦР-РВ-SARS-CoV-2» Синтол и экспресс-теста для выявления COVID-19 (для предварительной оценки). Наиболее доступным по стоимости является набор реагентов ПОЛИВИР SARS-CoV-2 «Express», наиболее дорогим из рассматриваемых является экспресс-тест для выявления COVID-19. Наиболее экспрессным с точки зрения применения набора реагентов и получения результата является экспресс-тест для выявления COVID-19 (20 мин), наиболее долгим – набор реагентов «Проба NK-S» (3 ч). Для оценки достоверности определение возбудителя заболевания COVID-19 методом ПЦР с каждым набором проводили экспериментальное определение COVID-19 у каждого пациента. Выборка пациентов составила 50 чел. При этом персональные данные людей были исключены из исследования, и каждый человек шифровался номером пациента. Все больные имели признаки заражения COVID-19.

Оценили влияние изучаемых наборов реагентов при определении возбудителя заболевания COVID-19 на достоверность определения. Для ручного выделения лучше всего подходит набор реагентов «Проба NK-S», для автоматизированного выделения лучше всего подойдёт набор реагентов компании «Синтол», т.к. время выделения РНК оборудованием KingFisher Flex составляет не более 10 мин, время амплификации для получения результата составляет 1 ч 20 мин.

Оба рассмотренных набора производят и поставляют российские компании. Стоимость наборов будет относительно других реагентов стабильной и не вызовет ни финансовых проблем, ни территориальных.

# ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ АЛЬГИНАТНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ, СШИТЫХ КАТИОНАМИ КАЛЬЦИЯ И ЖЕЛЕЗА, С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ ИХ ГИГРОСКОПИЧНОСТИ, ДЕГРАДИРУЕМОСТИ И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

***Д. Д. Халашевская*[1], *Р. А. Акасов*[2], *Д. Б. Трушина*[2], *А. В. Звягин*[2]**

[1]Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Миусская пл., 9; *starwaydh@gmail.com*

[2]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

Каждый год в мире диагностируется около 330000 новых случаев рака мочевого пузыря (РМП). Это одно из часто рецидивирующих и трудно поддающихся лечению онкологических заболеваний. В настоящее время для лечения РМП применяют системную доставку химиотерапевтических средств, сопровождающуюся серьезными побочными эффектами. Альтернативным подходом является локальная доставка противоракового препарата непосредственно в околоопухолевое пространство трансуретрально. Такой способ введения с использованием наноразмерных объектов не позволяет поддерживать необходимую концентрацию вещества из-за его быстрого выведения из организма. В данном исследовании предлагается разработка внутрипузырной системы доставки с помощью альгинатного гидрогеля, обеспечивающего поступление лекарственного средства в течение длительного времени в нужной концентрации.

Цель данного исследования – формирование ряда альгинатных гидрогелей сшиванием различными катионами и их характеризация. Задачи исследования: разработка технологии приготовления гидрогелевых структур на основе альгината натрия; изучение влияния модельной среды мочевого пузыря на целостность и деградацию образцов; исследование их гигроскопичности, пористости и токсичности.

Для получения гелей, сшитых катионами $Ca^{2+}$ и $Fe^{3+}$, раствор альгината натрия в деионизированной воде (2 вес.%) смешивали с растворами $CaCl_2$ и $FeCl_3$ (0,1-1 вес.%) и желировали в течение 30 минут. Наиболее устойчивые гели были получены с катионом $Ca^{2+}$ в концентрации 0,8-1 вес.%. Для изучения деградации гелей образцы термостатировали в течение 5 дней при 37 °C в 8 М растворе NaCl, моделирующем среду мочевого пузыря. В отличие от гелей, сшитых катионом $Fe^{3+}$, гели с $Ca^{2+}$ проявили свою гигроскопичность и сохранили первоначальную форму. У гелей, сшитых $Ca^{2+}$ и $Fe^{3+}$, процент деградации в модельной среде (потеря массы геля) составил 49±4 % и 57±2 % соответственно. Гидрогели были высушены лиофильно для определения их безводной массы и микроструктуры с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). В результате исследования образцы с катионом $Fe^{3+}$ разрушились и стали не пригодны для дальнейшего анализа. Гели с $Ca^{2+}$ потеряли 97±1 % своей массы, что говорит об их высокой гигроскопичности. По итогам анализа образцов методом СЭМ наиболее пористая структура выявлена у геля, сшитого с $Ca^{2+}$ в концентрации 0,8 вес.%. По результатам in vitro исследований на линии человеческих фибробластов WI-26 гель с катионом $Fe^{3+}$ оказался цитотоксичным (до 90% ингибирования роста клеток), что можно объяснить закислением питательной среды, а гели с катионом $Ca^{2+}$ проявили умеренную цитотоксичность (до 50%).

Таким образом, в результате анализа серии гидрогелей наиболее перспективными для дальнейшей разработки системы доставки являются кальций-альгинатные гели с концентрацией $Ca^{2+}$ 0,8 вес.%.

# ВЛИЯНИЕ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРОРОСТКОВ *LUPINUS LUTEUS* L

***А. С. Ханова*, *П. С. Крылова*, *Я. А. Блинова*, *М. Ю. Подобед*, *А. А. Празян*, *Д. Д. Бабина*, *В. С. Бондаренко*, *Е. В. Бондаренко***

Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Обнинск, Киевское шоссе, 1/1

Одним из эффективных инструментов для получения новых устойчивых к абиотическим и биотическим стрессорам линий в селекции зернобобовых культур является радиационный мутагенез.

Для изучения влияния γ-излучения на морфофизиологические параметры проростков *L. luteus* сорта Надёжный сухие семена (любезно предоставленные ВНИИ люпина – филиал ФГБНУ «ФНЦ кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса», г. Брянск) подвергли облучению в дозах 25–1200 Гр (мощность дозы 90 Гр/ч) в 3-х повторностях по 30 семян в каждой на УНУ ГУР-120 ($^{60}$Co, ВНИИРАЭ). Содержание антиоксидантных ферментов анализировали при помощи спектрофотометра «NanoDrop OneC». Статистическую обработку результатов проводили непараметрическими методами.

Анализ морфометрических параметров *L. luteus* выявил статистически значимое ингибирование развития гипокотиля в диапазоне доз 100–1200 Гр по сравнению с контролем. Несмотря на уменьшение длины гипокотиля, доза 100 Гр оказала стимулирующее воздействие на другие морфометрические параметры: на длину корня и биомассу.

Оценка влияния γ-облучения семян на фазы развития проростков показала, что воздействие доз от 200 до 1200 Гр негативно сказалось на скорости образования первых истинных листьев, которые в контрольной группе и в группах от 25 до 100 Гр появились на 7-е сутки, что на 72 часа раньше, чем в группах 800 и 1200 Гр. Дозы 800 и 1200 Гр оказали ингибирующее воздействие на формирование и развитие листьев *L. luteus*.

Анализ активности антиоксидантных ферментов показал, что значимых различий активности аскорбатпероксидазы в листьях *L. luteus* в группах воздействия γ-излучения по сравнению с контролем не выявлено. Активность каталазы значимо уменьшалась при дозах 50 и 200 Гр. В группах 400 и 800 Гр было зафиксировано значимое увеличение активности гваяколовой пероксидазы (РОХ). При облучении в дозе 1200 Гр, однако, значимых различий в активности данного фермента не обнаружено, что, возможно, свидетельствует об истощении запаса (расход фермента превышает его синтез) или о деградации РОХ.

Таким образом, для дальнейших радиобиологических исследований дозы от 400 Гр и выше будут расцениваться, как ингибирующие. Для протоколов радиационного мутагенеза рекомендуется использовать дозы в диапазоне от 100 до 400 Гр.

# ВЛИЯНИЕ СЛИЗИ УЛИТОК *ACHATINA FULICA* НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И РАЗВИТИЕ КОРНЕЙ У АСТР СОРТА "ПОБЕДА"

***Е. И. Харина, А. В. Никитина, М. Д. Моргачева***
Северо-Кавказский федеральный университет, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, 1;
*morgacheva-2001@mail.ru*

На сегодняшний день астры пользуются большой популярностью в садоводстве, так как обладают высокой декоративностью. Однако, размножение этих растений сопровождается определенными сложностями, связанными с прорастанием семян: свежие семена имеют всхожесть от 50 до 80% и высокую энергию прорастания, но во время хранения всхожесть их быстро снижается до 60–40%, а на четвертый год составляет не более 4%. Повысить всхожесть семян можно лишь с применением стимуляторов роста, которые чаще всего имеют синтетическую природу. Такие вещества проигрывают экологически безопасным природным стимуляторам. Одним из компонентов стимулятора роста растений может являться слизь улиток. Благодаря своему составу она может заменить синтетические препараты. Особым интересом пользуется слизь, выделяемая улитками во время стресса, предположительно она будет оказывать положительный эффект на всхожесть семян и улучшать дальнейшее развитие астр. Целью данного исследования является изучение влияния слизи улиток *Achatina fulica* на всхожесть семян астр сорта «Победа».

Объектом исследования явились семена астры сорта «Победа» 2020 и 2022 года сбора в количестве 180 шт для каждого года. Сбор слизи проводился по методике, которую использует компания, специализирующаяся на сборе слизи улиток, в собственной модификации, связанная с созданием стрессовой ситуации для улиток при помощи незначительного повышения температуры. Для эксперимента использовалась 100% слизь и 50% (разбавленная стерильной водой), контролем – стерильная вода. Для прорастания семян использовались стерильные чашки Петри, на дно которых помещалась фильтровальная бумага, предварительно смоченная в исследуемых жидкостях. В каждую чашку Петри были помещены 30 семян. Эксперимент проводился в 3-х повторах, учитывалась всхожесть семян и скорость корнеобразования.

Проведенный эксперимент показал, что семена урожая 2020 года с применением слизи максимальной концентрации проросли в полном объеме (100%) и имели среднюю длину корня 5,3 мм. В 50% растворе слизи всхожесть составила 83%, а средняя длина корня 4,1 мм. В контрольных чашках с водой всхожесть составила 77%, а средняя длина корня 2,5 мм. Всхожесть семян 2022 года сбора при воздействии неразбавленной слизи составила 90%, при длине корня 2,9 мм. В 50% растворе слизи взошло 73,3% семян со средней длиной корня равной 3,2 мм. В контрольных чашках проросли 77,6% семян, средняя длина их корня составила 2,7 мм.

В результате проведенных исследований были получены данные о влиянии слизи на прорастание семян. Выявлено, что слизь улиток *Achatina fulica* в качестве стимулятора дает положительную динамику всхожести семян урожая прошлых лет посредством увеличения роста корневой системы более чем в два раза, а также преобладающим количеством всходов в сравнении с контрольными образцами.

# ШТАММ *BACILLUS PUMILUS* 3-19 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ PGPR-АГЕНТ

***Д. И. Хасанов*, *Е. Э. Ласточкина, Е. С. Волкова, Н. Л. Рудакова, М. Р. Шарипова***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*hasda2149@gmail.com*

Штаммы рода *Bacillus* – обязательные участники подавляющего большинства почвенных микробных сообществ. Они также активно взаимодействуют с растениями, продуцируя значимые метаболиты, факторы роста, фитогормоны, сидерофоры и т.д. Многие бациллы выделяют в среду ряд антимикробных компонентов, способных антагонистически взаимодействовать с фитопатогенными микроорганизмами.

Целью данного исследования было изучить способность природного почвенного изолята *B. pumilus* 3-19 к синтезу сидерофор, биосурфактантов, а также оценить его антимикробную активность.

Исследование способности секретировать сидерофоры штаммом *B. pumilus* 3-19 проводили в условиях голодания по железу на специфической среде, содержащей краситель хром азурол S. Формирование зоны просветления вокруг колонии наблюдали после 72 ч роста при 30°C. Это свидетельствует о способности *B. pumilus* 3-19 продуцировать активные соединения, сидерофоры, обладающие способностью хелатировать ионы $Fe^{3+}$, связанные с красителем в среде, благодаря чему происходит обесцвечивание среды.

Первичный скрининг способности продуцировать биосурфактанты проводили с использованием 5-дневной культуральной жидкости *B. pumilus* 3-19, выращенной на трёх средах: LB, soybean medium nutrition (SMN) среда и minimal salts medium containing starch (MSK). Результаты эмульгирующей активности (Emulsification Index (E24)) культуральной жидкости штамма показали, что наиболее устойчивая эмульсия образовывалась при росте на среде MSK и LB.

Антимикробную активность *B. pumilus* 3-19 оценивали по отношению к фитопатогенным бактериям *Pectobacterium carotovorum* PCA 2a и *Xanthomonas vesicatoria*.

Штамм *B. pumilus* 3-19 культивировали в жидкой среде LB в течение 20 ч. Патогены инкубировали в среде LB 20 ч, затем готовили суспензию клеток в физиологическом растворе до конечной OD600=0.11 и засевали газоном на среду LA. Готовили суспензии исследуемых штаммов в физрастворе до конечной OD600=1.0 и раскапывали на газон патогена. Чашки Петри инкубировали при 30 °C 72 ч. Анализ проводили на 24, 48 и 72 ч роста. Зона ингибирования роста патогенов наблюдалась на 48 ч роста и составила 24±4 мм для *Pectobacterium carotovorum* и 22±4 мм для *X. vesicatoria*.

Исследование фунгистатической активности *B. pumilus* 3-19 тестирование проводили на среде Чапека. В качестве тест-культур использовали микромицеты *Alternaria solani* и *Fusarium oxysporum*. Штамм *B. pumilus* 3-19 не проявляли антимикробной активности против исследуемых фитопатогенных микромицетов. Полученные данные позволяют оценить *B. pumilus* 3-19 как перспективный PGPR-штамм.

*Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (Приоритет-2030) и за счет средств гранта РНФ № 22-16-00138.*

# ВЛИЯНИЕ ЭКССУДАТОВ КАРТОФЕЛЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ШТАММА *PSEUDOMONAS KOREENSIS* MG-8

***К. А. Хасанова*[1], *Ф. Ф. Замалиева*[2], *М. Т. Лутфуллин*[1]**

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *hasanovakarina9@gmail.com*

[2]Татарстанский НИИ Сельского Хозяйства, 420059, Казань, Оренбургский тракт, 48

Абиотические стрессы являются основными лимитирующими факторами для сельскохозяйственного производства во всем мире. Они влияют на характеристики роста, продуктивность и выживаемость сельскохозяйственных культур. Растения, ассоциированные с бактериями, способными стимулировать рост, выдерживают стрессовые условия, которые могут изменить их физиологические и биологические свойства за счет экспрессии белков, устойчивых к холоду, жаре, засухе, засолению и щелочности. Альтернативным решением проблемы влияния стресса на растения является исследование взаимодействия растений с микробными сообществами ризосферы.

Целью работы являлась оценка влияния экссудатов картофеля, полученных при действии абиотических стрессов, на экспрессию генов trpB, trpE, sip, bfr, curlin, lapA, csgG штамма *Pseudomonas koreensis* MG-8, выделенного из ризосферы картофеля.

Для получения экссудатов черенки картофеля выращивали в течение 7 суток при действии абиотических факторов: NaCl (1%), $CuSO_4$ (75 мкМ), температура (4 °C). *P. koreensis* MG-8 культивировали в течение 5 часов в среде LB с добавлением экссудатов картофеля, полученных при разных условиях, в концентрации 10%. Для измерения уровня экспрессии генов был использован метод количественной ОТ-ПЦР с использованием коммерческого набора OneTub RT-PCR SYBR и системы ПЦР в реальном времени. Уровни отдельных транскриптов были нормализованы по сравнению с уровнем экспрессии гена 16S рРНК. Относительная экспрессия гена рассчитана с помощью алгоритма ΔΔCt, а количество гена-мишени – по формуле $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Экссудаты картофеля увеличивали экспрессию генов, ответственных за синтез индол-3-уксусной кислоты trpE в 2 раза, trpB достоверно не изменяли. Полученные при действии NaCl экссудаты увеличили экспрессию trpB в 21 раз, trpE – в 15 раз. Добавление экссудатов, полученных при температуре 4 °C и действии $CuSO_4$, увеличивали уровень экспрессии trpB в 4 и 3 раза, экспрессия гена trpE не изменялась. Экссудаты картофеля увеличивали экспрессию генов, ответственных за синтез сидерофоров sip в 7 раз, bfr – в 4 раза. Добавление экссудатов, полученных при действии NaCl, увеличивали экспрессию sip в 12 раз, bfr – в 24 раза. Экссудаты, полученные при температуре 4 °C и действии $CuSO_4$, увеличивали уровень экспрессии sip в 16 и 7 раз, bfr – в 4 раза в обоих случаях. Экссудаты картофеля увеличивали экспрессию генов curlin, ответственных за формирование биопленок, в 5 раз, lapA и csgG – в 2 раза. Добавление экссудатов, полученных при действии NaCl, увеличивала экспрессию гена lapA в 14 раз. Полученные при температуре 4 °C экссудаты увеличивали экспрессию генов curlin и csgG в 2 раза.

Таким образом, экссудаты картофеля, полученные в стрессовых условиях, повышали уровень экспрессии генов ответственных за синтез ИУК, сидерофоров и формирование биопленок.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 22-16-00138 и Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (Приоритет-2030).*

# COMPOSITION AND STRUCTURE OF THE DOMINANT SPECIES IN BENTHAL ALGOCENOSES OF A LARGE EUTROPHICATED RIVER (ON THE EXAMPLE OF THE OKA RIVER, RUSSIA).

***T. Khedairia*, *A. G. Okhapkin***
Lobachevsky University, 603022, Nizhny Novgorod, Gagarin Ave., 23;
*khedairia.ta@gmail.com*

Benthic algae, also known as periphyton or phytobenthos, are primary producers that thrive in aquatic environments. They are regarded as the primary source of energy for higher trophic levels in most unshaded streams in the temperate region, and are also important chemical modulators that convert inorganic chemicals to organic forms. Additionally, they participate in purification processes, serve as substrate stabilizers, and provide habitats for various organisms. Due to these characteristics, benthic algae are a crucial component of aquatic ecosystems.

This study aims to identify dominant complexes of algocenoses and determine their spatial distribution in the estuary section of the eutrophic-hypertrophic river, Oka, during the spring of 2019. Phytobenthos samples, including 18 soft soil phytobenthos (epipelon) and 47 periphyton (epiliton 20, epiphyton 27) samples were taken at 10 stations located in the ripal of the Oka estuary section on the Nizhny Novgorod territory in the third decade of May 2019. Stations 1 to 5 are located along the right bank at 4.0 km distance from the river\'s confluence with the Volga, while the rest are located along the left bank at 6.6 km distance. Methodological approaches to sample collection and proceeding were presented in previous researches.

During the sampling period, water temperature (Temp) varied from 17,5 to 21,8°C, transparency (Transp) was consistently low (0,4–0,8 m), electrical conductivity (Elect) ranged within 522–568 μS /cm, and pH varied from 8,3 up to 8,7.

The study identified 198 taxa of macrophytes, stones, and soft soils, comprising of 3 divisions, 25 orders, and 66 genera of algae. Diatoms were the dominant species, constituting 75,8% of the 33 taxa with predominance. *Cyanoprokaryotes* (15,2%) and *Chlorophyta* (9%) were less dominant. The soft soil on the right bank had a richer microphytobenthos, with *Stephanodiscus hantzschii* and *S. minutulus* being predominant in stations 6–10. The dominant epilithon species list had higher diversity (17 taxa), including *Nitzschia*, *Navicula*, and *Oscillatoria* sp. *Filamentous algae*, *Cladophora glomerata*, were present on some stones. The benthic algocenoses of the river Oka is composed of diatoms (56,3%), green algae (39,7%), and cyanoprokaryotes (4,0%), typical for eutrophic rivers. *Scenedesmus* (39 wt), *Nitzschia* (14), *Navicula* (8), *Fragilaria* (7), and *Gomphonema* (7) were some of the eurybiont representatives identified. The low diversity of cyanobacteria was due to the beginning of the growing season.

# IDENTIFICATION OF XENOPSIN AND ARRESTIN SEQUENCES IN THE *LISSACHATINA FULICA* GENOME

***A. Chiriac*, *I. N. Dominova*, *V. V. Zhukov***
Immanuel Kant Baltic Federal University, 236016, Kaliningrad, Nevskogo ul., 14A
*nastyakiryakbfu@gmail.com*

Light is an essential stimulus for most animals, and it is perceived by photoreceptor cells, divided into two main types: ciliary and rhabdomeric cells. Rhabdomeric photoreceptors predominate in molluscs; these cells contain specialized light-sensitive proteins named opsins. The evolution of opsins is extremely complex; several subfamilies are distinguished among them, including xenopsins, which differ from opsins. Furthermore, in some molluscs, arrestins are involved in phototransduction. However, the precise mechanisms of phototransduction and the interaction of individual proteins in this cascade in molluscs, especially gastropods, need further studies. Thus, the goal of the current study was to find and identify xenopsins and aretins sequences in the *Lissachatina fulica* genome.

The *L. fulica* genome is the first and still the only sequenced and annotated terrestrial gastropod genome. Deciphering the chromosomal sequences of *L. fulica* has provided researchers with important information for studying the genetics, evolution, behaviour, and ecology of land molluscs.

To identify arrestins and xenopsins sequences *L. fulica* genome was downloaded from GigaDB repository. A dataset of 102 arrestin and 24 xenopsin protein sequences from various species of the Gastropoda was selected from the NCBI Protein database. Evolutionary relationships between proteins were established using multiple sequence alignment. The search for homologous sequences of arrestin in the *L. fulica* genome was performed on the basis of HMM profiles; as a result, 6 sequences were identified (E-value < -100). Further BLAST analysis confirmed their assignment to arrestins. A similar study for xenopsins did not yield the desired results, because BLAST analysis of the predicted sequences allowed them to be assigned to the opsin family but not to a specific xenopsins subgroup.

Thus, six arrestin sequences were identified in the *L. fulica* genome: Afu001103, Afu001102, Afu012542, Afu002008, Afu000807, and Afu002928. Xenopsin sequences have not been identified. Therefore, this is the first attempt to find phototransduction cascade proteins in the *L. fulica* genome. The present work opens up the possibility of a more detailed study of photoreception mechanisms in this terrestrial gastropod mollusc and the identification of possible ecological specificities in reactions to light.

# АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОВЯЗКОСТИ МЕМБРАН ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO* И *IN VIVO* ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

***А. Э. Хлынова***

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *sashahlynova@list.ru*

Клеточная мембрана является важнейшей структурой, участвующей в ответе опухолевой клетки на терапию, например, фотодинамическую терапию (ФДТ). Изменение ее различных параметров, таких как микровязкость, могут свидетельствовать об эффективности проводимого лечения. Подобные исследования проведены на модельных мембранах или *in vitro*, в то время как исследования на более сложноорганизованных моделях не проводились.

В работе использована клеточная линия Hela Kyoto (рак шейки матки человека), мыши линии Nude. ФДТ проводилась с использованием клинически одобренного фотосенсибилизатора Фотодитазин (ФЗ) в дозе 10 мкм для клеток и сфероидов, для мышей – внутривенная инъекция, 5 мг/кг, длина волны облучения 659 нм. Диаметр светового пятна 10 мм, плотность мощности лазерного излучения 50 мВт/см$^2$. Время облучения – 4 мин 10 с, плотность энергии 10 Дж/см$^2$. Вязкость анализировали через 10 мин, 1, 3, 6, 24 и 48 ч. Для опухолей *in vivo* – через 24 ч и 7 дней после ФДТ. Изображения были получены с помощью лазерного сканирующего микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Germany) с модулем FLIM (Becker&Hickl, Germany), длина волны возбуждения 850 нм, регистрация 500–550 нм.

При инкубации клеток Hela Kyoto с ФЗ в контрольных образцах регистрировались значения вязкости, равные 353 ± 30 сП; у клеток с облучением светом без добавления ФЗ – 339 ± 40 сП, что сопоставимо со значениями чистого контроля – 325 ± 49 сП. Через 10 минут после ФДТ наблюдалось значительное уменьшение микровязкости до 187 ± 21 сП с сохранением тенденции через 1-6 ч – ~150 сП.

Схожие результаты были получены для трех контрольных групп опухолевых сфероидов: 323 сП, 317 сП, 334 сП, соответственно. Статистически значимое снижение микровязкости до 178 ± 43 сП наблюдалось спустя 3 ч и в течение 24 ч (~180 сП) после ФДТ, что также согласуется с результатами для клеточного монослоя. Однако спустя 48 ч наблюдения зарегистрировано небольшое увеличение вязкости до 225 ± 45 сП.

При проведении исследования на опухолях *in vivo* показано, что вязкость в чистом контроле и контроле с облучение или ФЗ равна ~260 сП. После ФДТ зарегистрировано статистически значимое повышение вязкости до 401 ± 26 сП. Однако в течение недели значения вязкости снизились до контрольных – 317 ± 46 сП.

Таким образом, в ходе работы впервые оценены изменения микровязкости клеточной мембраны монослоя, опухолевых сфероидов и клеток опухолей *in vivo* при ФДТ с использованием фотодитазина. Полученные результаты могут быть полезны для оценки эффективности проводимой терапии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 20-14-00111 П).*

# ПОИСК БЕЛКОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АПОПТОЗОМ У *NEUROSPORA CRASSA* И *FUSARIUM OXYSPORUM*

***С. И. Холиков*, *М. А. Галимов*, *А. М. Марданова***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*surushholikov499@gmail.com*

*Fusarium* — один из важнейших родов фитопатогенных грибов, приводящих к большим потерям урожая многих экономически важных сельскохозяйственных культур. Наиболее распространенным методом борьбы с фитопатогенными грибами является использование фунгицидов, альтернативой чему может стать фармакологическая манипуляция программируемой клеточной смертью (ПКС) грибных клеток.

Целью работы явился биоинформатический поиск, идентификация и анализ гипотетических белков *Fusarium* и *Neurospora*, участвующих в программируемой клеточной смерти.

Нами было идентифицировано 12 гипотетических белков *F. oxysporum*, ассоциированных с ПКС: 3 AIF-подобных белка, участвующих в каспазонезависимом апоптозе (AIF, AMID1, AMID2), 2 метакаспазы FoMCA1 и FoMCA2 (у дрожжей обнаружена только 1 метакаспаза), поли (АДФ-рибоза)-полимераза (PARP) (отсутствующая у дрожжей), являющаяся мишенью нуклеаз при апоптозе, нуклеазы TatD и NUC1, два белка ингибитора апоптоза BI-1 и BIR1, протеаза NMA111 и цитохром С, покидающий митохондрии при апоптозе. Идентифицированные последовательности совместно с описанными последовательностями белков ПКС человека и червя (*Caenorhabditis elegans*) были использованы для построения филогенетического древа.

Сравнительный анализ показал, что AIF-подобные белки (AIF, AMID1, AMID2) *F. oxysporum* были ближе к таковым у *N. crassa*, чем к *S. cerevisiae* и *H. sapiens*. ScNDI, описанный в литературе как гомолог AMID H. sapiens, был в группе с альтернативными дегидрогеназами (ФАД-содержащие редуктазы, похожие на AIF-подобные белки). Дрожжевой AIF образовывал отдельную группу, а AIF-подобные белки *F. oxysporum* гомологичны белкам *N. crassa* (признаны гомологами человеческих AIF-белков). Все AIF-подобные белки имеют консервативный домен связывания пиридиндинуклеотидов (pyr_redox_2), характерный для альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ. Помимо этого, белки FoAIF и NcAIF имеют FeS-кластер Риске, описанный ранее у других AIF-подобных белков и домен редуктазы С. FoAIF и NcAIF предположительно содержат в своей последовательности сигнал митохондриальной локализации (MLS) на N-конце и два сигнала ядерной локализации. BIR1 *F. oxysporum* и *N. crassa* был ближе к BIR1 животных.

Таким образом, идентифицировано и проанализировано 12 гипотетических белков, ассоциированных с ПКС у *F. oxysporum* и 11 - у *N. crassa*. Четыре белка мицелиальных грибов (AIF-подобные и BIR-1), по-видимому, ближе к человеческим, чем к дрожжевым. Дрожжевые белки, ассоциированные с ПКС, имеют более короткую последовательность, некоторые из них отсутствуют (PARP, AMID2).

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 22-16-00138 и Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).*

# КОМПРЕССИОННАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ЭЛАСТОГРАФИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТАТУСА ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ РАННЕМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

***И. А. Храмушина*[1], *Е. В. Губарькова*[2], *Д. А. Воронцов*[3], *Е. Л. Бедерина*[2], *А. Л. Потапов*[2], *А. А. Советский*[4], *В. Ю. Зайцев*[4], *М. А. Сироткина*[2], *С. В. Гамаюнов*[3], *А. Ю. Воронцов*[3], *П. В. Криворотько*[5], *Н. Д. Гладкова*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23
[2]Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1
[3]Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, 603163, Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1
[4]Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46
[5]НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, 197758, Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, 68

Биопсия сигнальных лимфоузлов (СЛУ) относится к числу стандартных методов при определении степени распространенности процесса у больных раком молочной железы (РМЖ). Однако при проведении интраоперационного поиска СЛУ дополнительно удаляются ЛУ второго и более порядка, что необоснованно увеличивает травматичность процедуры и риск нежелательных последствий хирургического вмешательства. К стандартному подходу послеоперационного определения метастазов РМЖ в ЛУ относится гистологическое исследование. При этом данное исследование требует много времени и средств, а также не всегда позволяет идентифицировать микрометастазы в ЛУ (размером менее 2 мм) и не может быть реализовано в условиях интраоперационной диагностики.

Целью данного исследования является оценка диагностической значимости метода компрессионной оптической когерентной эластографии (К-ОКЭ) для определения неметастатических и метастатических ЛУ при РМЖ. Всего было исследовано 15 сигнальных и 15 подмышечных ЛУ у 25 пациентов с ранним РМЖ. Получено около 100 К-ОКЭ и структурных ОКТ изображений. В исследовании использовалась установка скоростной спектральной мультимодальной ОКТ (ИПФ РАН, Россия) с центральной длиной волны 1310 нм, поперечным пространственным разрешением ~20 мкм, разрешением по глубине ~15 мкм, глубиной сканирования ~1,7 мм и скоростью сканирования 20 000 А-сканов/сек. Система обеспечивает выполнение фазочувствительной компрессионной ОКЭ для визуализации упругих свойств ткани и вычислении абсолютных значений жесткости ткани – модуля упругости Юнга в кПа. Верификацию полученных данных проводили с помощью стандартного гистологического исследования.

В результате исследования было показано, что на структурных ОКТ и К-ОКЭ изображениях метастатический ЛУ характеризуется отсутствием дифференциальной визуализации капсулы и коры, а также более однородным и высоким затуханием ОКТ-сигнала по глубине по сравнению с неметастатическим ЛУ. На ОКЭ-изображении наличие метастазов в ЛУ легко отличить от нормальной ткани ЛУ по преобладанию высоких значений жесткости (более 500 кПа). На основе визуального анализа ОКТ и К-ОКЭ изображений были разработаны ОКТ критерии обнаружения нормального, реактивного и пораженного метастазами ЛУ. Диагностический тест, основанный на визуальной оценке изображений К-ОКЭ по сравнению со структурными ОКТ изображениями, показал более высокую диагностическую точность (73,0–81,8% против 87,5–90,5%) и чувствительность (77,8–80,2% против 87,7–93,2%) при обнаружении метастазов в ЛУ.

В заключение, К-ОКЭ позволяет дифференцировать нормальные, реактивные и метастатические ЛУ с более высоким контрастом по сравнению с традиционными структурными ОКТ изображениями. К-ОКЭ представляет собой новый высокоэффективный метод для интраоперационной оценки статуса ЛУ и наличия в них метастазов.

*Исследование выполнено за счет гранта РНФ № 18-75-10068.*

# ВЛИЯНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ЗЕЛЕНОГО СВЕТА И ДЕФИЦИТА КРИПТОХРОМА 1 НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И ПРО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС У *ARABIDOPSIS THALIANA*

***А. Ю. Худякова*[1], *М. В. Верещагин*[2]**

[1]Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пущино Московской обл., ул. Институтская, 2; *fonzoo271@gmail.com*

[2]Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276, Москва, ул. Ботаническая, 35

Спектральный состав света играет важную роль в регуляции многих физиологических процессов в растениях, прежде всего, в поддержании на достаточно высоком уровне процессов фотосинтеза. Влияние света различного спектрального состава на различные метаболические процессы в растениях реализуется с помощью известного набора клеточных фоторецепторов, таких как фитохромы – рецепторы красного/дальнего красного света (КС) и криптохромы и фототропины – рецепторы синего света (СС) и УФ-А. Известно, что сенсоры ЗС регулируют развитие и рост с помощью фоторецепторов КС и СС. ЗС составляет значительную часть спектра солнечного излучения, и имеется много данных, свидетельствующих о том, что ЗС модулирует световые реакции растений. Предполагается, что криптохром 1 является не только сенсором СС, но и отношения СС к зеленому свету (ЗС) в спектре падающего света. При этом имеется мало информации о влиянии различного соотношении СС/ЗС в спектре излучения на активность криптохрома 1 и его участия в регуляции различных физиологических процессов, таких как фотосинтез и окислительные процессы, оцениваемые по про-/антиоксидантному балансу.

С использованием мутанта hy4, дефицитного по криптохрому 1, изучена роль криптохрома 1 и добавок ЗС на фоне КС и СС (различное соотношение КС:СС:ЗС) в процессах фотосинтеза и регуляции про-/антиоксидантного баланса у *A. thaliana* дикого типа (ДТ) и мутанта hy4. Также изучена возможная роль некоторых светоиндуцированных генов в этих процессах.

Дефицит криптохрома 1 у мутанта hy4 во всех вариантах спектра приводил к снижению скорости фотосинтеза, активности фотосистемы 2 (ФС2), активности аскорбатпероксидазы и общей пероксидазы, но к увеличению содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Однако в присутствии дополнительного ЗС разница между ДТ и мутантом в параметрах фотосинтетической активности, таких как максимальный квантовый выход (Fv/Fm) и индекс производительности ФС2 (PIABS), а также скорости фотосинтеза либо уменьшалась, либо отсутствовала, вероятно, из-за вызванного ЗС снижения содержания активного криптохрома. Увеличение доли ЗС в световом спектре приводило к увеличению экспрессии основных светозависимых транскрипционных факторов (ТФ), а также апобелков фитохромов D и C, что свидетельствует как об участии ТФ и фитохромов в системе регулируемого ЗС светового сигналинга, так и о пороговом эффекте ЗС.

Таким образом, мы предполагаем, что соотношение СС/ЗС, влияя на содержание активного криптохрома 1, регулирует параметры фотосинтеза и про-/антиоксидантный баланс.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-74-00048.*

# АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ИСКУССТВЕННЫХ НАСАЖДЕНИЙ ДЛЯ ОРГАНИЗАЦИИ ЭФФЕКТИВНОЙ СИСТЕМЫ ОЗЕЛЕНЕНИЯ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ

***А. Ш. Хужахметова*[1], *В. П. Воронина*[2], *С. Е. Лазарев*[1]**

[1]ФНЦ агроэкологии РАН, 400062, Волгоград, просп. Университетский, 97; *avfanc@yandex.ru*

[2]Волгоградский государственный аграрный университет, 400002, Волгоград, просп. Университетский, 26

Город Волгоград, характеризуется значительной протяженностью (90 км) вдоль правого берега р. Волги, что определяет важность актуализации данных о пространственном размещении искусственных насаждений в пределах городской территории методом дистанционного зондирования.

На основе космосников за 5-летний период (2017-2022 гг., sentinel 2, портал Sentinel Hub) рассчитано пороговое значение NDVI (> 0,45) для зеленых насаждений с учетом фаз сезонного развития растений (во 2 декаде мая) различных экологических групп, влияния антропогенных факторов на растительный покров.

Установлена неравномерность размещения искусственных насаждений и их площади в пределах административных районов: в Тракторозаводском лесистость составила 20,5% (14,8 км2), Краснооктябрьском – 17,1 % (6,7 км2), Дзержинском – 15,2% (11,4 км2), Центральном – 14,3% (2,0 км2), Ворошиловском – 17,6% (5,1 км$^2$), Советском – 9% (24,4 км$^2$), Красноармейском – 17,9% (24,3 км$^2$). По показателям лесистости (26%) выделен Кировский район, где основная часть древесных посадок произрастает в долинах балок, на склонах Ергеней и в прибрежной зоне р. Волги, о. Сарпинский. Несмотря на высокий расчетный процент лесистости (17,1) городской территории установлены недостатки дендрологического каркаса, связанные с планировочными решениями, предельным возрастом насаждений, их состоянием и удаленностью от основной жилой застройки, низким уровнем благоустройства или непригодностью для рекреационных целей. Значительная часть искусственных насаждений (государственные лесные полосы, насаждения лесничеств и санитарно-защитных зон промпредприятий) расположены удаленно от густонаселенных городских районов и рассматриваются как защитные лесные насаждения специального назначения.

Для эффективного функционирования системы озеленения необходимы планомерная реконструкция старовозрастных насаждений; формирование озеленительных пространств на склоновых территориях между пойменными и надпойменными речными террасами правого берега Волги, которые не представляют особого интереса для размещения объектов городской инфраструктуры, но обладают хорошими лесорастительными условиями.

*Исследование выполнено по теме Государственного задания ФНЦ агроэкологии РАН (Регистрационный номер: 121041200195-4), финансирование – Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.*

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ МАРКЕРОВ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЖЕЛУДКА НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

***Э. К. Хуснутдинова*[1], *Л. Ф. Галлямова*[1], *С. Г. Петрова*[1], *М. Д. Масалимова*[1], *С. А. Мустафин*[1], *Ю. Ю. Федорова*[1], *Р. Р. Абдеев*[2], *Д. Д. Сакаева*[3], *Р. Ф. Саттаров*[1], *Д. С. Прокофьева*[1]**

[1]Уфимский университет науки и технологий, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32; *alfiyakh83@gmail.com*

[2]Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Башкортостан, 450054, Уфа, ул. Проспект Октября, 73/1

[3]Башкирский государственный медицинский университет, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

У больных раком желудка (РЖ) и здоровых доноров из Республики Башкортостан проведен скрининг патогенных генетических вариантов 185delAG, 3875del4, 3819del5, T300G, 2080delA (insA), 4153delA, 5382insC гена BRCA1. В качестве материала для исследования использованы образцы ДНК 368 больных РЖ и 300 здоровых доноров. Также использованы образцы ДНК, выделенные из опухолевой и нормальной ткани желудка 74 пациентов с описываемым диагнозом. В ходе исследования всего выявлены 4 образца с мутацией: 1 образец ДНК больного РЖ с мутацией 3875del4 в гетерозиготном состоянии (частота 0,3%), 2 образца ДНК больных РЖ с мутацией 5382insC в гетерозиготном состоянии (частота 0,5%) и 1 образец ДНК индивида контрольной группы с вариантом T300G в гетерозиготном состоянии (частота 0,6%). Мутации 185delAG, 3819del5, 2080delA (insA), 4153delA гена BRCA1 не были выявлены ни в образцах больных, ни в образцах контрольной группы.

Проведен поиск изменений нуклеотидной последовательности участков ДНК, содержащих выявленные ранее в результате экзомного секвенирования патогенные генетические варианты c.G1874C гена FANCA и c.1320+1G>A гена CDH1. В то время как патогенез РЖ среди носителей патогенных генетических вариантов BRCA1/2 остается неясным, все больше данных показывает, что ответ на определенные методы лечения могут зависеть от экспрессии генов BRCA1/2.

В результате HRM-анализа варианта c.G1874C гена FANCA нами были выявлены 9 образцов ДНК из крови больных РЖ и здоровых доноров с различиями в температуре плавления. Нами обнаружены 4 образца среди больных РЖ и 5 образцов контрольной группы, график плавления которых идентичен графику образца с вариантом c.G1874C гена FANCA. При этом следует отметить, что в опухолевой ткани выявлен только вариант, ранее обнаруженный при секвенировании экзома. У больных вариант выявлен у 1 татарина и 3 русских. В контроле все 5 вариантов с изменением были русскими. Для отобранных образцов была проведена верификация результатов методом секвенирования по Сэнгеру. В результате HRM–анализа генетического варианта c.1320+1G>A в гене CDH1 нами был выявлен один образец ДНК из крови больного РЖ с различиями в температуре плавления. Данный образец в дальнейшем был просеквенирован по Сэнгеру с целью верификации изменений.

В результате секвенирования генетический вариант c.1320+1G>A гена CDH1 не подтвержден, но рядом выявлено другое изменение – это миссенс вариант rs587781783 (c.1300G>C) в экзоне 9 гена CDH1.

Необходимы дальнейшие исследования для определения взаимосвязи между данными генами и развитием РЖ, а также для определения наиболее эффективных методов терапии.

*Государственное задание Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-03-2021 193/5.*

# РАК ЯИЧНИКОВ: ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ РЯДА ПАТОГЕННЫХ И ВЕРОЯТНО ПАТОГЕННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

***Э. К. Хуснутдинова*[1, 2], *Э. Т. Мингажева*[1], *А. В. Сагитова*[1], *Я. В. Валова*[1], *О. К. Харина*[1], *А. В. Коростелева*[1], *А. Х. Нургалиева*[1], *Ю. Ю. Федорова*[1], *Р. Р. Фаисханова*[3], *Д. Д. Сакаева*[4]**

[1]Уфимский университет науки и технологий, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
*prokofevads@uust.ru*

[2]Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

[3] Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Башкортостан, 450054, Уфа, ул. Проспект Октября, 73/1

[4]Башкирский государственный медицинский университет, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

Высокий риск развития рака яичников в первую очередь связан с мутациями в генах BRCA1 и BRCA2. Однако нарушения в них объясняют лишь небольшую часть случаев. Мутации в других генах также могут быть связаны с патогенезом заболевания.

В результате биоинформатического анализа данных таргетного секвенирования 21 гена кандидата рака яичников были отобраны 22 потенциально важных генетических варианта. Из которых 9 являются функционально-значимыми изменениями и обнаружены у 34% пациенток. 13 представляют собой варианты с неясной клинической значимостью. Нами проведен скрининг отобранных вариантов на независимой выборке больных раком яичников без учета семейной истории заболевания (n=310) и здоровых доноров (n=332) разного этнического происхождения из Башкортостана. В работе применялись следующие молекулярно-генетические методы: полимеразная цепная реакция (ПЦР); анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ); электрофорез; анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM) на Rotor-Gene 6000 или CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System с использованием флуоресцентного красителя Eva Green; дискриминация аллелей TaqMan (Applied Biosystems).

В результате проведенного исследования установлено, что у больных раком яичников из Республики Башкортостан с наибольшей частотой 7,4% встречаются патогенные и вероятно патогенные в гене BRCA1, с частотой 1,3% выявлены изменения в гене BRCA2 и с частотой менее 1 % (от 0,32% до 0,97%) обнаружены мутации в генах CHEK2, ATM, NBN, PALB2, MRE11, MSH6 и MUTYH. Впервые обнаружены варианты c.3968A>G/BRCA2 и c.515T>C/NBN у 0,32% пациенток из Башкортостана. Полученные данные указывают на преобладающую роль дупликации c.5266dupC в развитие рака яичников у женщин из Республики Башкортостан. Так, каждая 19-ая пациентка с диагнозом «рак яичников» является носительницей данного изменения. По этническому составу группа носительниц мутации c.5266dupC в нашем исследовании неоднородна: русские – 2,6%, татарки – 1,9%, башкирка – 0,32% и украинка – 0,32%. Полученные нами данные подтверждают преобладающую роль данной мутации и предполагаемое происхождение в славянских популяциях.

В целом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что главным генетическим фактором риска развития рака яичников в Республике Башкортостан являются мутации в гене BRCA1. Впервые обнаруженные в данном исследовании миссенс варианты c.3968A>G и c.515T>C генов BRCA2 и NBN, соответственно, с низкой частотой встречаются среди больных раком яичников из Башкортостана.

*Государственное задание Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Соглашение от 30 сентября 2021 года № 075-03-2021 193/5.*

# ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ВЕГЕТАТИВНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ЭКСПЛАНТОВ *CYPRIPEDIUM REGINAE* В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

***Д. Ю. Цветкова, В. В. Сырова, А. Е. Макарова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*dashatsvetkov@gmail.com*

Существует несколько методов размножения представителей рода *Cypripedium*, самые распространенные – семенами, делением корневища размножение в условиях *in vitro*. Размножение фрагментами корневища и семенами является не самым продуктивным решением, так как это довольно длительный и малопродуктивный процесс. Поэтому вегетативное размножение в условиях *in vitro* является самым актуальным направлением.

Цель данной работы – изучение потенциала вегетативного размножения *Cypripedium reginae* Walter (Башмачок королевы) с использованием групп фитогормонов в разных концентрациях, а также разных эксплантов. Исследования проводились на базе лаборатории микроклонального размножения растений Ботанического сада ИББМ ННГУ.

Для исследований использовалась питательная среда Harvais and Hadley с добавлением гормонов НУК, ИМК и КИН. В ходе работы было поставлено три эксперимента с использованием разных эксплантов: верхушечные меристемы, корневые меристемы, протокормы.

Для эксперимента с верхушечными меристемами было приготовлено пять вариантов среды с различной концентрацией НУК/КИН: 1/1, 1/2, 1/3, 1/4, 1/5 мг/л по 10 колб каждого варианта и 10 контрольных колб с безгормональной средой. В каждую колбу помещалось по 10 почек, выделенных у стерильных (культивируемых в условиях *in vitro*) растений. Колбы помешались на темные стеллажи и культивировались при температуре 10°С в течение 4 месяцев.

Для эксперимента с корневыми меристемами использовались те же питательные среды, сроки и условия культивирования, что и в первом эксперименте. В каждую колбу помещали по 5 корневых меристем, размером 5х1 мм.

Для эксперимента с протокормами было приготовлено десять вариантов среды с различной концентрацией ИМК/КИН: 0,5/0,5, 0,5/1, 1/0,5, 1/1, 1/2, 2/1, 1/3, 3/1, 3/3 по 10 колб каждого варианта и 10 контрольных колб с безгормональной средой. В каждую колбу помещали по 10 протокормов размером 1х1 мм. Колбы помешались на темные стеллажи и культивировались при t 10°С в течении 4 месяцев.

В результате эксперимента с верхушечными меристемами увеличение концентрации КИН стимулировало вегетативное размножение растений. В группе 1/5 НУК/КИН у 69% растений происходило вегетативное размножение.

В результате эксперимента с корневыми меристемами вегетативного размножения не наблюдалась, и отмечалась гибель значительной части эксплантов.

В результате эксперимента с протокормами преобладание в среде ИМК привело к наибольшему вегетативному размножению (до 33,3% в группе 3/1). В группах 0,5/1 и 1/2 также наблюдалось вегетативное размножение у 31,0–34,4% растений. Равное соотношение ИМК/КИН не привело к активному размножению.

Таким образом, наибольшим потенциалом вегетативного размножения *Cypripedium reginae* обладали верхушечные меристемы, выращенные на среде с содержанием 1/5 НУК/КИН.

# МЕХАНИЗМЫ ВЫХОДА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ИЗ ПОСТХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ШОКА

***И. А. Цыденова*[1, 2], *Д. С. Долгашева*[1, 2], *К. А. Гаптулбарова*[1–3], *Е. А. Кравцова*[1, 2], *М. К. Ибрагимова*[1–3], *А. А. Нуштаева*[4], *Н. В. Литвяков*[1–3]**

[1]НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, 634050, Томск, Набережная реки Ушайки, 10; *tsydenova422@gmail.com*

[2]Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36

[3]Сибирский государственный медицинский университет, 634050, Томск, Московский тракт, 2

[4]Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

При раке молочной железы у 25% больных опухолевые клетки (в том числе микрометастазов) после проведения неоадъювантной химиотерапии выходят из состояния постхимиотерапевтического шока старения и образуют макрометастазы.

Цель работы – доказать или опровергнуть начальную гипотезу о том, что состояние CNA-активации генов WNT-сигналинга (амплификации активаторов и делеции негативных регуляторов) обуславливает способность дифференцированных опухолевых клеток выходить из состояния постхимиотерапевтического шока.

Использовали две линии опухолевых клеток: T47D с высоким уровнем и линию Bt474 с нормальным уровнем активации WNT-сигналинга. Выделение дифференцированных клеточных популяций CD44-/CD24+ проводили с помощью сортера Sony SH800S (Sony Biotechnology, США) При помощи IL6 индуцировали дедифференцировку до опухолевых стволовых клеток (ОСК). Для ингибирования WNT-сигналинга использовали ингибитор ICG-001 (1 μM). Динамику роста культуры и формирование сфероидов фиксировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse Ti-S (Nikon, Япония). Изображения анализировали с помощью программного обеспечения NIS-Elements. Определяли клеточность культур, ареал закрытия дна лунки и наличие маммосфер. Полнотранскриптомный анализ осуществляли на платформе Clarium S Assay.

После воздействия цисплатина на субпопуляции EpCAM+CD44-CD24-/+ клеток опухолевых линий Bt474 и T47D динамика клеточности культур существенным образом различается. Полученные данные показывают, что клетки Bt474 с нормальным уровнем WNT-сигналинга не выходят из старения после воздействия цисплатина, в то время как клетки линии T47D выходят на 14 сутки из постхимиотерапевтического шока и дедифференцируются до ОСК. Совместное воздействие цисплатина и ингибитора привело к тому, что на 21 сутки практически все клетки этой линии погибли, в то время как один ингибитор не препятствовал пролиферации и образованию маммосфер. Действие ингибитора WNT ICG-001 подтверждалось транскриптомным анализом, и экспрессия 122/170 генов WNT-сигналинга оказывается сниженной более чем в 2 раза по сравнению с клетками без воздействия ICG-001.

Проведенные нами культуральные исследования механистически доказывают, что выход из постхимиотерапевтического шока опухолевых клеток обусловлен эктопической активацией WNT-сигналинга за счет амплификаций активаторов и/или делеций негативных регуляторов генов WNT-сигналинга.

*Работа поддержана грантом РНФ № 21-15-00243.*

# УРОВНЬ ПОДВИЖНОСТИ НЕРВНЫХ ПРОЦЕССОВ У СТУДЕНТОВ РОССИИ И ВЬЕТНАМА

***Чан Тху Чанг*, Н. В. Звягина**
Северный (Арктический) федеральный университет, 163002, Архангельск, набережная Северной Двины, 17; *chan.t@edu.narfu.ru*

Тип высшей нервной деятельности (ВНД) определяется, в том числе, подвижностью нервных процессов и известно, что представители разных типов ВНД отличаются по адаптивным свойствам и по устойчивости к влиянию неблагоприятных факторов. Интенсивная учебная нагрузка и связанный с этим стресс приводят к возникновению множества сложных нейрофизиологических изменений в организме, негативно влияющих на жизнь молодых людей.

Таким образом, целью нашей было исследование уровни подвижности нервных процессов у студентов российских и вьетнамских вузов.

В нашем исследовании участвовали 180 студентов в возрасте 18–24 лет: 90 студентов обучающихся в Северном Арктическом федеральном университете (САФУ, г. Архангельск) и 90 студентов Ханойского Университета Естественных Наук (г. Ханой). Все исследования были проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2013 года). Уровень подвижности нервных процессов оценивали с использованием Личностного опросника Яна-Стреляу по количеству набранных баллов на определенные вопросы. Расчет уровней тревожности и подвижности нервных процессов и статистический анализ осуществляли с использованием программы SPSS-26. Все данные представлены без учета пола, поскольку достоверных отличий по изучаемым показателям у представителей разного пола обнаружено не было.

Выявлено, что средний балл подвижности нервных процессов у российских студентов соответствовал 48,36±13,07, у вьетнамских студентов был равен 53,49±15,20. Полученные данные имеют более высокие значения чем интервал нормальной подвижности нервных процессов (24–48 баллов), что указывает на быструю смену процессов возбуждения к торможению и наоборот.

Кроме того, было выявлено разное количественное распределение студентов из России и Вьетнама по уровню подвижности процессов возбуждения и торможения. Доля российских студентов с уровнем подвижности нервных процессов от 24 до 48 составила 43,33%, что на 25% выше, чем доля вьетнамских студентов. Их количество соответствовало 17,78%. Большинство вьетнамских студентов (80%) и российских студентов (52,22%) имели уровень подвижности нервных процессов выше 48 баллов, что свидетельствует о быстром переключении нервных процессов у данных обследованных. Представители с таким уровнем подвижности нервных процессов характеризуются высокими адаптивными возможностями, устойчивостью в трудных жизненных ситуациях, легким переключением с одного вида деятельности на другую. У минимального количества студентов был зафиксирован низкий уровень подвижности нервных процессов.

Таким образом, проведенные исследования выявили особенности уровня подвижности нервных процессов у студентов, проживающих в разных эколого-географических зонах.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ РАФТОВ В ПРОЦЕССАХ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ

***Ю. А. Черных*, *Е. В. Мартыненко*, *М. А. Наквасина***
Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская, пл., 1;
*postofficeulia1520@gmail.com*

Изучение роли рафтов в осуществлении и регулировании различных клеточных процессов, в том числе программированной смерти клеток, – актуальная проблема современной физико-химической биологии. Одним из подходов для исследования роли рафтов в процессах клеточной гибели является изучение изменений структурно-функционального состояния клеток в условиях воздействия модификаторов отдельных компонентов рафтов, в том числе амфотерицина В – макролидного антибиотика, взаимодействующего со стеринами и формирующего в мембранах ион-проницаемые нанопоры.

В этой связи нами были исследованы изменения некоторых структурно-функциональных свойств лимфоцитов периферической крови человека после воздействия индукторов апоптоза – пероксида водорода ($10^{-5}$ моль/л) и УФ-света (240-390 нм и 254 нм) – в присутствии амфотерицина В в концентрации $10^{-10}$ моль/л, в которой он не оказывает цитотоксического действия на иммуноциты.

Выявлено, что воздействие амфотерицина В на лимфоциты в течение 1-2 ч индуцирует статистически значимое повышение уровня жизнеспособности клеток по сравнению с таковым для иммуноцитов, модифицированных $H_2O_2$ в отсутствие антибиотика. Показано, что в присутствии фосфатидилхолина и холестерина изменяется интенсивность флуоресценции амфотерицина В в ее максимумах, что указывает на возможность взаимодействия антибиотика с этими компонентами клеточных мембран. Протекторный эффект амфотерицина по отношению к лимфоцитам в условиях инициации апоптоза можно объяснить тем, что антибиотик связывается с холестерином, локализованным в рафтах, нарушает процессы кластеризации Fas-рецепторов смерти и снижает возможность запуска рецепторопосредованного механизма апоптоза. Нельзя исключить и возможность стабилизации липидного бислоя в присутствии амфотерицина В и повышения устойчивости мембраны к действию пероксида водорода.

При исследовании уровня жизнеспособности лимфоцитов человека через 1 ч после УФ-облучения (240-390 нм) и при $\lambda_{max}$ 254 нм в дозе 1510 Дж/м$^2$ в присутствии амфотерицина не выявлены статистически значимые отличия исследуемого параметра по отношению к таковому для фотомодифицированных лимфоцитов в отсутствие антибиотика. С использованием флуоресцентного зонда анилинонафталинсульфоната установлено, что УФ-облучение (254 нм) лимфоцитов в присутствии амфотерицина или облучение клеток и добавление антибиотика не вызывают значительных изменений структурного состояния лимфоцитарных мембран по сравнению с таковым для облученных свободных клеток.

По-видимому, процессы реализации УФ-индуцированного апоптоза лимфоцитов не зависят от состояния рафтов их мембран, модифицированных амфотерицином.

# ПЕРВИЧНАЯ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАМКНУТОГО ПОМЕЩЕНИЯ

***В. В. Чугунова*[1, 2], *Е. С. Жукова*[2], *Е. В. Наумочкина*[2], *Ю. В. Иванова*[2], *М. А. Позднякова*[2]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*nika.23.06.20@mail.ru*

[2]Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии Роспотребнадзора, 603005, Нижний Новгород, ул. Семашко, 20

Жители крупных городов проводят более 90% своего времени в помещениях различного назначения, внутренняя среда которых способна оказывает значительное влияние на здоровье человека. На сегодняшний день сформированы представления о видовом составе биоценозов микроорганизмов замкнутых помещений различного назначения. При этом более 50% помещений подвержены синдрому «больного здания» и являются причиной различных заболеваний человека. Действующая система нормативных параметров среды обитания человека не учитывает микробиологический контроль для многих типов помещений, а существующие методы дезинфекции теряют свою актуальность и требуют повышения концентраций и длительности воздействия в связи с высоким адаптационным потенциалом микроорганизмов, что также негативно сказывается на организме человека. Новым словом в санитарной обработке стало применение пробиотических средств. Экспериментально показано стабильное снижение патогенов и безопасность пробиотических биоклинеров в сравнении со стандартными методами очистки. Однако наиболее эффективные режимы применения таких средств еще не найдены. Исходя из вышесказанного, необходим комплексный подход, позволяющий отслеживать и своевременно проводить эффективную санитарную обработку помещений с применением пробиотиков.

Цель работы - исследование микробиоты замкнутого помещения до проведения воздействий, направленных на регуляцию биоценозов микроорганизмов искусственной среды.

Санитарно-биологические исследования проводились классическими микробиологическими методами для выявления на неживых поверхностях и в воздухе экспериментального помещения *Escherichia coli, Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Staphylococcus aureus, Streptococcus* spp., а также *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Candida* spp., *Penicillium, Aspergillus* и *Bacillus subtilis*. Забор материала осуществлялся методом седиментации и смывов. Оптическую микроскопию мазков осуществляли на световом микроскопе 12V DC 30W (Carl Zeiss, Германия) с иммерсией при увеличении x100.

Первичный анализ микробиоты в экспериментальном помещении показал качественное наличие на предметах *E. coli, S. aureus* и *Enterococcus* spp. Обнаружено наличие в воздухе *S. aureus* в количестве 4,5±1,32 КОЕ, *Streptococcus* spp. – 3,0±2,00 КОЕ и *Penicillium* - 1,0±0,00 КОЕ. В основном, микроорганизмы были выявлены в смывах с предметов, непосредственно контактирующих с руками человека – входная дверь, раковина, ручка смесителя и выключатель освещения. Обнаруженные микроорганизмы являются условно-патогенными и могут быть как частью нормальной микрофлоры человека, так и вызывать различные заболевания, в особенности в период ослабления иммунной системы. Исходя из полученных результатов, экспериментальное помещение подходит для дальнейших исследований.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФРАГМЕНТОВ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ДЛЯ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ РОДА *FORMICA*

***Е. С. Чуркина*, *А. Д. Сергеева*, *А. Д. Перенков***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*ekaterina.churkina.97@mail.ru*

Развитие молекулярных технологий стало основой для создания нового метода для идентификации видов, названного ДНК-баркодингом. Преимущественно в качестве ДНК-маркера используют участок гена митохондриальной цитохромоксидазы субъединицы I (COI). Однако, ряд исследователей приходят к выводу, что использование фрагмента гена COI для анализа биоразнообразия является нецелесообразным. Микросателлиты могут локализоваться в некодирующих областях, а, следовательно, быть селективно нейтральными, обладают высокой полиморфностью и кодоминантностью, характеризуются большим сходством у близких видов, что позволяет использовать их в качестве новых маркеров для баркодинга. Целью работы была оценка возможности использования фрагментов микросателлитов Fy3, Fy7, FE16 и FE43 в качестве ДНК-маркеров.

Материалом исследования послужила ДНК рабочих особей муравьев *Formica rufa* (сборы 2019–2020 гг.) и последовательности микросателлитов Fy3, Fy7, FE16 и FE43 муравьев рода *Formica*, задепонированных в базе данных NCBI, раздел Nucleotide под номерами AF411990.1, AF411997.1, AB103292.1 и AB103296.1 соответственно. Выделение ДНК проводили из головы и груди муравьев при помощи фенол-хлороформенного метода экстракции. Затем проводили амплификацию исследуемых образцов с детекцией в агарозном геле. После проведения очищения, реакции терминации и спиртового переосаждения, секвенировали образцы по Сэнгеру. Анализ полученных последовательностей проводили в программе Mega.

Результаты секвенирования фрагментов микросателлитов Fy3, Fy7, FE16 и FE43 муравьев *F. rufa* сравнили с задепонированными последовательностями микросателлитов Fy3 и Fy7 муравьев *F. yessensis* и с последовательностями FE16 и FE43 муравьев *F. exsecta*. Обнаружили, что нуклеотидная последовательность микросателлита Fy3 *F. rufa* отлична от последовательности *F. yessensis* на 8,1%, в свою очередь, последовательность микросателлита Fy7 значительно отличается от задепонированной последовательности на 46,2%.

Последовательность микросателлита FE43 *F. rufa* отличается от задепонированной последовательности *F. exsecta* на 5,5%, процент отличий последовательности микросателлита FE16 составил 5,2%.

Маркер для ДНК-баркодинга должен быть достаточно изменчивым в пределах рода, чтобы различать близкородственные виды. Таким образом, последовательность фрагмента ДНК микросателлитов Fy3, FE16 и FE43, вероятно, наиболее перспективный генетический маркер для баркодинга муравьев рода *Formica*.

# ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА РОСТ АСКОМИЦЕТА-МИКОРИЗООБРАЗОВАТЕЛЯ

***Л. М. Чуркина*, *И. В. Стручкова*, *Е. В. Березина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*lyudochka.churkina@inbox.ru*

Большинство видов наземных растений вступают в симбиотические отношения с микоризными грибами. Анаморфный аскомицет *Oidiodendron maius* является одним из основных видов, образующих эрикоидную микоризу в корнях растений семейства Вересковые. Полезные свойства разных штаммов *O. maius* активно исследуются за рубежом. В России *O. maius* обнаруживали достаточно часто, но исследований по нему мало, а во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов депонирован единственный штамм – *O. maius* VKM F3860.

Целью настоящего исследования являлось изучение особенностей роста *O. maius* Robak штамма VKM F3860 на питательных средах разного состава.

Для определения особенностей и скорости роста, а также времени вступления в спороношение *O. maius* пересевали, используя посев мицелием уколом в центр чашек Петри. Эксперимент проводили на агаризованных средах: картофельно-декстрозном агаре, среде Чапека-Докса, мальц-экстракт агаре, на среде Андерсона и WPM. О скорости роста грибов судили по изменению диаметра колонии (в течение 22 суток), измеряя его в двух перпендикулярных направлениях и принимая среднее этих измерений за итоговое значение.

Для исследования влияния фенольных соединений, которые в больших количествах присутствуют у Вересковых, на рост *O. maius*, проводили посев мицелия уколом в центр чашки Петри на агаризованную среду Чапека-Докса с добавлением растворов рутина и кверцетина (конечная концентрация 4 мМ).

Гриб *O. maius* рос со средней скоростью 1±0,1 мм/сут на картофельно-декстрозной среде, 0,5±0,1 мм/сут на среде Чапека-Докса, 0,9±0,2 мм/сут на мальц-экстракт агаре, 0,7±0,1 мм/сут и 0,8±0,2 мм/сут на средах WPM и Андерсона. Полученные данные позволяют считать гриб медленно растущим. Наиболее подходящие для культивирования среды – картофельно-декстрозный агар и мальц-экстракт агар. Кроме того, *O. maius* можно использовать при работе с растительными средами. Спороношение на среде Чапека-Докса и картофельно-декстрозном агаре наблюдалось на 15 сутки культивирования, на среде Андерсона – на 10 сутки, на среде WPM – на 15 сутки. На мальц-экстракт агаре за время эксперимента спороношение не наблюдается. На средах с добавлением растворов рутина и кверцетина гриб рос со средней скоростью 0,35±0,1 мм/сут и 0,4±0,1 мм/сут. Спороношение за время эксперимента не наблюдалось.

Выявленная нами способность гриба расти на средах с различными составами позволяет активно использовать его для исследований взаимодействия грибов и растений.

*Исследование выполнено за счет гранта РНФ № 22-74-00107.*

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КЛЕТОК-ПРОДУЦЕНТОВ ПРОКАРИОТИЧЕСКОГО И ЭУКАРИОТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРАНСГЕННОГО GDNF.

***Д. В. Шамадыкова*[1], *Д. Ю. Пантелеев*[1], *А. В. Ревищин*[1], *Г. В. Павлова*[1–3]**

[1]Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 117485, Москва, ул. Бутлерова, 5А; *djirgala04@gmail.com*

[2]НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, 125047, Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, 16

[3]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

Целью данного исследования является изучение функциональной активности трансгенного белка GDNF в зависимости от типа клеток-продуцентов: прокариотические либо эукариотические клетки.

Исследование проводилось на клетках PC12, целых и диссоциированных ганглиях дорзальных корешков эмбрионов крысы и нейробластоме человека SHSY5Y. GDNF состоит из pre-области pro-области и собственно зрелой формы mGDNF в работе исследовалась активность mGDNF и proGDNF. Культуры клеток культивировали в присутствии модифицированных форм нейротрофического фактора GDNF: proGDNF, mGDNF. proGDNF, mGDNF экспрессировались в двух разных системах: прокариотической *Escherichia coli* и эукариотической HEK293.

Отростки нервных клеток при использовании mGDNF, полученного из трансгенных HEK293/mGDNF, более длинные и ветвистые, чем при культивировании в присутствии mGDNF, экспрессированного в *E. coli.* Но proGDNF, синтезированный в прокариотической системе, показал лучшие результаты по сравнению с proGDNF, синтезированным в эукариотической системе. В целом при культивировании в присутствии mGDNF, экспрессированного в эукариотической системе, наблюдали большее количество нейритов по сравнению с другими формами белка. Значительное увеличение (в 2,5 раза по сравнению с proGDNF, и в 15 раз по сравнению с контролем) экспрессии β3-тубулина в случае культивирования в присутствии mGDNF было подтверждено методом ПЦР в реальном времени. Контрольный рекомбинантный GDNF в меньшей степени стимулировал образование нейральных отростков. В результате воздействия токсина MPP на клетки SHSY5Y количество живых клеток было выше при совместном культивировании с proGDNF, полученном из *E. coli* (78% выживших клеток в опыте против 68% в контроле). Выделенным из трансгенных эукариотических клеток фактором, показавшим хороший результат в поддержании жизнеспособности клеток SHSY5Y, был mGDNF. Результаты исследования свидетельствуют о том, что proGDNF необходим для поддержания жизнеспособности клеток, при этом mGDNF обладает повышенными нейроиндукторными свойствами. Значительные нейроиндукторные свойства mGDNF позволяют использовать его при необходимости сокращения популяции нервных клеток, например, при травматических повреждениях или нейродегенеративных заболеваниях. Клетки-продуценты важны для формирования биологической активности изучаемых форм нейротрофического фактора.

Несмотря на наличие некоторой функциональной биологической активности белков, синтезированных в прокариотической системе, предпочтительным является использование GDNF, экспрессированным из эукариотических клеток, благодаря его более высоким нейроиндукторным свойствам.

*Работа выполняется при поддержке Госзадания 1021062411632-1-3.1.4.*

# СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ НОВОГО КОНЪЮГАТА БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ И КАТИОНА F-16 НА РАКОВЫЕ И ЗДОРОВЫЕ КЛЕТКИ

***В. А. Шарапов*[1], *К. Н. Белослудцев*[1, 2], *А. И. Ильзоркина*[2], *Д. А. Недопекина*[3], *Е. В. Давлетшин*[3], *А. Ю. Спивак*[3], *М. В. Дубинин*[1]**

[1]Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1; *slav.sharapov@yandex.ru*

[2] Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, Московской обл., ул. Институтская, 3

[3]Институт нефтехимии и катализа РАН, 450075, Уфа, ул. Проспект Октября, 141

Тритерпеноиды являются одной из перспективных групп фитохимических веществ с многообещающими биологическими свойствами. Одним из наиболее известных представителей тритерпеноидов является бетулиновая кислота, для которой показано множество видов фармактивности. В то же время все нативные природные тритерпеноиды имеют существенный недостаток. Это касается их низкой биодоступности вследствие плохой растворимости в биологических жидкостях, что ограничивает их эффективное взаимодействие с мишенями. Поэтому в настоящее время идёт поиск методов химической модификации тритерпеноидов для повышения их биодоступности и активности. В настоящем исследовании оценивалась цитотоксичность полученного нами ранее конъюгата бетулиновой кислоты и проникающего катиона F16 на клеточные линии аденокарциномы молочной железы (MCF-7) и фибробластов человека (HF), а также показан механизм, лежащий в основе его мембранотропного действия. Подтверждено, что конъюгат проявляет более высокую цитотоксичность по сравнению с нативной бетулиновой кислотой, а также в низких дозах блокирует пролиферацию обеих клеточных линий и вызывает остановку клеточного цикла в фазе G0/G1. Конъюгат обладал высоким потенциалом накопления в митохондриях, визуализируясь в этих органеллах, что было наиболее выражено в раковых клетках. Установлено, что действие конъюгата сопровождается гиперпродукцией активных форм кислорода (АФК), как в раковых, так и в здоровых клетках. Наряду с этим, используя искусственные липосомы, обнаружено, что конъюгат способен влиять на фазовое состояние липидных мембран, делать их более текучими и индуцировать неспецифическую пермеабилизацию, способствуя общей цитотоксичности испытуемого агента. При этом показано, что токсичность конъюгата была сравнима с таковой широко используемого противоопухолевого препарата доксорубицина, IC50 которого составляла около 0,5 мкМ для обеих исследованных клеточных линий.

# ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В-ГЕКСОЗАМИНИДАЗЫ А В КЛЕТКАХ ПАЦИЕНТА С БОЛЕЗНЬЮ ТЕЯ-САКСА С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

***А. Шаршакова*, *А. А. Шаймарданова, Юсеф Али, Ибрагим Ахмад, В. В. Соловьева, А. А. Ризванов***

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *sharshakova.00@mail.ru*

Болезнь Тея-Сакса (БТС) – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, относящееся к группе GM2-ганглиозидозов и вызванное нарушением ферментативной активности β-гексозаминидазы А (НехА), лизосомного фермента, играющего важную роль в метаболизме GM2-ганглиозидов. Дефицит НехА вызывает накопление GM2-ганглиозидов преимущественно в клетках нервной системы, что приводит к тяжелой прогрессирующей нейродегенерации. В настоящее время не выработано эффективного метода лечения БТС, так как существующая терапия не предотвращает обострения неврологических нарушений у пациентов. На данный момент наиболее перспективным методом лечения считается использование генетически модифицированных стволовых клеток. Настоящая работа направлена на исследование возможности восстановления дефицита НехА в клетках пациента с БТС с помощью генетически модифицированных мезенхимных стволовых клеток (МСК).

МСК были выделены из жировой ткани человека и генетически модифицированы рекомбинантными аденоассоциированными вирусами, содержащими уникальные кодон-оптимизированные кДНК генов α- (HEXA) и β-субъединиц (HEXB) НехА (МСК-HEXA-HEXB). МСК-HEXA-HEXB культивировали с МСК пациента с БТС (мутМСК) в системе Трансвелл. Через 7 дней изучали эффективность кросс-коррекции дефицита НехА. Концентрацию HEXA в клеточных лизатах определяли с помощью ИФА. Число копий генов HEXA и HEXB определяли с помощью количественной ПЦР. Детекцию белков HEXA и HEXB проводили с помощью ИЦХ и вестерн-блот анализов.

После доставки НехА путем кросс-коррекции в системе Трансвелл мутМСК содержали 72903,12±14026,65 и 80899,7±20847,92 копий кодон-оптимизированных генов HEXA и HEXB, соответственно на 1 мкг общей РНК. Концентрация HEXA в клеточных лизатах мутМСК (0,71±0,07 нг/мкл) после кросс-коррекции увеличилась в 2,25 раза по сравнению с нативными мутМСК (0,3±0,03 нг/мкл). Как α-, так и β-субъединицы НехА были обнаружены в мутМСК с использованием ИЦХ и вестерн-блот анализа после кросс-коррекции дефицита фермента.

Таким образом, эффективность кросс-коррекции дефицита НехА была показана в мутМСК пациента с БТС при взаимодействии с МСК-HEXA-HEXB. Такая коррекция может быть опосредована везикулярным транспортом и доставкой НехА через внеклеточные везикулы МСК-HEXA-HEXB.

*Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (Приоритет-2030).*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРНОГО СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЕМ АМФОТЕРИЦИНА В

***А. О. Шаталова***
Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская, пл., 1;
*shatalova-alina@mail.ru*

Одной из актуальных проблем физико-химической биологии является выяснение механизмов клеточной гибели, в частности, программированной смерти эритроцитов – эриптоза – и их гемолитической гибели. Обсуждаются вопросы, касающиеся выявления роли рафтов – гетерогенных и динамичных белково-липидных кластеров – в процессах гибели клеток. В качестве модификатора компонентов рафтов может быть использован амфотерицин В – макролидный антибиотик с противогрибковым действием, формирующий трансмембранные каналы в клетках-мишенях и нарушающий стерин-зависимые внутриклеточные биохимические процессы.

В этой связи нами с использованием методов спектрофотометрии, люминесценции и флуоресцентной микроскопии исследованы изменения структурного состояния эритроцитов крови человека, модифицированных воздействием амфотерицина В.

Установлено, что амфотерицин В оказывает гемолитический эффект на эритроциты в исходных концентрациях $10^{-3}$ и $10^{-4}$ моль/л, а в диапазоне концентраций $10^{-9}$–$10^{-5}$ моль/л практически не влияет на целостность эритроцитов в условиях 30-минутной инкубации клеток с антибиотиком. Не обнаружены изменения степени гемолиза эритроцитов в присутствии амфотерицина ($10^{-9}$, $10^{-8}$, $10^{-7}$ моль/л) в условиях воздействия пероксида водорода ($10^{-5}$ моль/л), а также в присутствии антибиотика в концентрации $2{,}5 \cdot 10^{-6}$ моль/л через 1-3 ч после воздействия УФ-света (240–390 нм) в дозе 3020 Дж/м$^2$ по отношению к таковой для клеток, модифицированных пероксидом водорода и облучением в отсутствие этого агента.

Выявлены изменения в спектрах поглощения и флуоресценции суспензий эритроцитов в присутствии амфотерицина ($2{,}5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) по сравнению с таковыми для клеток в свободном состоянии, что указывает на реализацию процессов взаимодействия антибиотика с компонентами эритроцитарной мембраны.

Воздействие амфотерицина в конечной концентрации $2{,}5 \cdot 10^{-6}$ моль/л на эритроциты индуцирует изменение формы клеток и образование эхиноцитов, а также снижение пероксидной резистентности эритроцитарных мембран. Изменение архитектоники клеток (формирование эхиноцитов с шиповидной мембраной) и усиление окислительных процессов на поверхности эритроцитов, модифицированных амфотерицином, могут быть маркерными показателями эриптоза.

Следовательно, амфотерицин может быть использован для модификации эритроцитов с целью установления взаимосвязи между процессами изменения структурного состояния мембран и процессами клеточной гибели.

# КАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ IGG В ГИДРОЛИЗЕ N-БЕЛКА SARS-COV-2 У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 И ВАКЦИНИРОВАННЫХ ДОНОРОВ

***Л. Ш. Шаяхметова*[1, 2], *А. М. Тимофеева*[2]**

[1]Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
*l.shayakhmetova@g.nsu.ru*

[2]Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

Вирусы способны вызывать отклонения в работе иммунной системы человека, что ведет к образованию каталитически активных антител. Существуют примеры антител гидролизующих ДНК, олигонуклеотиды, белки и пептиды. В настоящее время появляются доказательства того, что COVID-19 может приводить к нарушению регуляции иммунной системы с развитием аутоиммунных патологий. Целью данной работы являлось исследование протеолитической активности антител, обладающих сродством к N-белку вируса SARS-CoV-2, образующихся у доноров, переболевших COVID-19 и вакцинированных Sputnik V.

Были отобраны образцы плазмы крови 60 добровольцев, которые были разделены на 4 группы: (I) перенесшие COVID-19 в 2020–2021 году; (II) переболевшие COVID-19 в 2020–2021 году и вакцинированные «Спутник V» в начале 2021 года; (III) не переболевшие COVID-19 и не вакцинированные «Спутник V». Из плазмы крови доноров аффинной хроматографией на Protein-G-Sepharose выделены препараты IgG, показана их электрофоретическая гомогенность. Из суммарного препарата антител доноров I и II групп выделены антитела, специфичные к N-белку (N-IgG). Содержание таких антител составило 0,2-0,4% от всех IgG.

Представлялось интересным, способны ли N-IgG не только узнавать N-белок, но и катализировать его гидролиз. Показано, что N-IgG способны эффективно гидролизовать N-белок, причем препарат доноров I группы ~ в 2 раза более эффективно его гидролизовал по сравнению с препаратом II группы.

Для выявления индивидуальных особенностей IgG доноров проанализированы препараты доноров из I-III групп. Активность гидролиза N-белка препаратами антител пациентов из I и II группы была сопоставима. Однако среди них был образец антител, обладающий повышенной эффективностью в гидролизе N-белка. Антитела доноров III группы не проявляли активности в гидролизе N-белка.

Проведен анализ зависимости протеолитической активности препаратов IgG пациентов из числа доноров I и II групп от экзогенных ионов металлов: $Ca^{2+}$, $Co^{2+}$ и $Mg^{2+}$. Показано, что металл-зависимость гидролиза N-белка для каждого препарата антител крови является уникальной. Чаще всего регистрировалось увеличение активности антител в присутствии ионов $Mg^{2+}$, а добавление ионов $Co^{2+}$, напротив, ингибировало реакции.

Таким образом, в данной работе впервые показано, что антитела доноров, болевших COVID-19 не зависимо от последующей вакцинации способны гидролизовать N-белок. Ионы двухвалентных металлов влияют на скорость реакций, однако это влияние индивидуально для каждого донора.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-75-10105.*

# ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ И ДИЕТЫ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ КЛЕТЧАТКИ НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА У МЫШЕЙ ЛИНИИ ICR (CD1)

***В. А. Шепилова*[1, 2], *А. В. Кабачкова*[1]**

[1]Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*shepilova.valeria@yandex.ru*

[2]Томский сельскохозяйственный институт – филиал Новосибирского государственного аграрного университета, 634009, Томск, ул. К. Маркса, 19

Микробиота кишечника представляет собой сложно организованную динамическую систему. Многогранность связей кишечной микробиоты как с организмом-хозяином, так и внутри самого микробного сообщества, дает основания исследователям выделить микробиоту в отдельную физиологическую систему. Многочисленные исследования проводят тесную связь между нарушением микрофлоры кишечника и проявлением метаболического синдрома, развитием сахарного диабета второго типа, атеросклерозом, раком толстой кишки и нейродегенеративных заболеваний головного мозга. В связи с чем актуальными и перспективными становятся исследования по изучению возможных способов воздействия на микробиом кишечника. Цель исследования: провести сравнительный анализ влияния различных рационов питания на изменения микрофлоры кишечника у мышей.

Исследования проводились на 15 аутбредных самцах линии ICR (CD1). Возраст к началу эксперимента составил 12 недель, масса – 30–33 г. В период адаптации и эксперимента содержались в стандартных условиях вивария. Было сформировано 3 группы (по 5 мышей в каждой группе). Первая группа (контроль) мышей получала стандартное питание (диета с содержанием жира 18%). Вторая группа мышей содержалась на диете с повышенным содержанием жиров (до 40%), а третья – с повышенным содержанием клетчатки (до 40%). В течение месяца у всех мышей ежедневно фиксировали количество съеденного корма и выпитой жидкости, заболеваемость, внешний вид, двигательную активность, состояние стула и изменения в поведении. Состояние микрофлоры оценивали по количеству жизнеспособных условно-патогенных микроорганизмов (энтеробактерий, дрожжей, грибов и ацидофильных микроорганизмов) (КОЕ×г-1) и пробиотических микроорганизмов (лакто- и бифидобактерий) в 1 г фекалий мышей путем высева соответствующих десятикратных разведений суспензии биоматериала на плотные питательные среды Эндо (Endo Agar, БиоМедиа), Сабуро (Биотехновация), Блаурокка и MRS и подсчета выросших колоний.

Уже начиная со второй недели эксперимента у мышей, содержавшихся на высокожировой диете, по сравнению с контрольной группой наблюдался высокий уровень тревожности и агрессивность поведения в домашней клетке. При этом мыши, получавшие клетчатку, демонстрировали более низкий уровень тревожности даже при сравнении с контрольной группой. На третьей неделе эксперимента были зафиксированы количественные сдвиги в составе кишечной микрофлоре. Так, у мышей, содержавшихся на высокожировой диете, достоверно увеличилось количество условно-патогенных микроорганизмов и не изменялось количество молочнокислых бактерий в сравнении с контрольной группой. У мышей, получавших клетчатку, зафиксировано значимое увеличение количества молочнокислых бактерий и уменьшение количества условно-патогенных в сравнении с контрольной группой.

# ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАТИОНА МЕТАЛЛА НА ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТЕТРА(ТИОФЕН-3-ИЛ)ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАНА

***Л. Н. Шестакова*[1, 2], *С. А. Лермонтова*[2], *Т. С. Любова*[2], *Л. Г. Клапшина*[2], *И. В. Балалаева*[1], *Н. Ю. Шилягина*[1]**

[1]Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *lshn1998@yandex.ru*

[2]Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

Одним из подходов к разработке новых фотосенсибилизаторов (ФС) является модификация уже известных структур, в частности включение катионов металлов в центр макроцикла. Цианоарилпорфиразины представляют особый интерес в качестве потенциальных ФС, поскольку имеют дополнительную модальность в виде чувствительности флуоресцентных свойств к вязкости локального микроокружения.

Нами были синтезированы и исследованы тетра(тиофен-3-ил)тетрацианопорфиразинаты, содержащие катионы железа, меди или кобальта в центре макроцикла.

Для водных растворов исследуемых металлокомплексов было показано наличие пиков поглощения и флуоресценции в красной и дальне-красной области спектра в диапазоне 550-650 нм. Для комплекса меди было зарегистрировано смещение положения максимумов на 20 нм в красную область спектра по сравнению с комплексами железа и кобальта. Рассматриваемые металлокомплексы показали принадлежность к классу молекулярных роторов, продемонстрировав возрастание квантового выхода флуоресценции при увеличении вязкости среды.

В эксперименте на культуре клеток эпидермоидной карциномы человека А431 методом конфокальной лазерной микроскопии показано накопление и диффузное распределение металлокомплексов в цитоплазме клеток, с окрашиванием везикул, через 4 часа инкубации. Оценка темновой и световой токсичности исследуемых металлокомплексов показала, что наибольшее значение фотодинамического индекса, показывающего во сколько раз ФС токсичнее на свету по сравнению с темновыми условиями инкубациями, характерно для комплекса меди.

Таким образом, предварительный сравнительный анализ тетра(тиофен-3-ил)тетрацианопорфиразинатов, содержащих катионы железа, меди и кобальта в качестве центральных катионов, показал, что наиболее перспективными фотофизическими и фотобиологическими свойствами для решения задач фотодинамической терапии характеризуется комплекс меди.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 23-23-00515).*

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕПТИДОГЛИКАНА КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПАТОГЕНЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

***А. С. Шибаева*[1], *Е. В. Глаголева*[2], *Н. В. Карпова*[2], *В. В. Ядерец*[2], *В. В. Джавахия*[2]**

[1]Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Миусская пл., 9; *aleksandrashibaeva@mail.ru*

[2]ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33/2

Пептидогликан (ПГ) – характерный компонент клеточной стенки бактерий. Это гетерополимер N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенный пептидными мостиками. Основная функция – механическая и осмотическая защита клетки. Целью работы являлось изучение активности ПГ против бактериальных возбудителей болезней сельскохозяйственных культур. В качестве объекта для выделения ПГ был выбран штамм грамотрицательной бактерии *Agrobacterium tumefaciens* ATCC 23308. Наработка биомассы проводилась в биореакторе объемом 3 л с использованием глюкозо-дрожжевой среды (глюкоза 20 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, $K_2HPO_4$ – 0,5 г/л, $MgSO_4$ – 0,2 г/л, NaCl – 0,1 г/л, pH 7,0) в течение 72 часов при 28°C, 250 об/мин. Выделение и очистку ПГ осуществляли по методике, описанной в литературных источниках. Образец лиофилизировали.

Для изучения контактной антибактериальной активности выбиралось несколько культур-возбудителей заболеваний сельскохозяйственных растений: *Pseudomonas corrugata* OP-1-3, *Erwinia carotovora* 1557, *P. marginalis* SHA 01, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 1517. Действие ПГ оценивалось с применением МТТ-теста в 96-луночных культуральных планшетах. Эффект оценивали визуально по отсутствию пурпурного окрашивания в лунках. Результат МТТ-теста показал ингибирующее действие суспензии ПГ в диапазоне концентраций от 3 до 25 мг/мл на рост и развитие указанных культур.

Для оценки эффективности ПГ *in vivo* проводилась обработка растений томата суспензией ПГ с последующим искусственным заражением штаммом *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 1517, вызывающим бактериальный рак томатов. Растения томата сорта «Балконное чудо» выращивали из семян в теплице (28°C днем и 16°C ночью). Количество опытных и контрольных растений – по 48 штук в каждой группе. Опытные растения в фазе 3-4 основных листьев обрабатывали суспензией ПГ (10 мг/мл) дважды с разницей в 7 дней путем опрыскивания листьев. Контрольные растения опрыскивали стерильной дистиллированной водой. Спустя 7 дней после последней обработки растения из обеих групп инокулировали бактериальной суспензией Cmm 1517 с титром $1\times10^8$ КОЕ/мл в пазуху 1-го и 2-го листа. Первые симптомы (эпинастия, хлороз листьев, некротизация стебля, увядание) появлялись спустя 7-10 дней после заражения. Степень поражения растений оценивали визуально на 35 сутки. Количество растений с поражениями более 50% составило в опыте 52%, в контроле – 84%.

Таким образом, показана антибактериальная активность ПГ *in vitro* против ряда фитопатогенов, которая подтверждена экспериментом *in vivo* на примере возбудителя бактериального рака томатов – *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. Обнаруженная активность может быть использована при создании биопрепаратов для сельского хозяйства.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЕГЕТАТИВНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ РОДА *RHODODENDRON IN VITRO*

***Д. М. Шилина*, *В. В. Сырова*, *А. Е. Макарова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*shilina-darya00@mail.ru*

Широкое использование представителей рода *Rhododendron* L. в озеленении, ставит задачу получения большого количества посадочного материала. В связи с этим разработка технологий микроклонального размножения становится особо актуальной для высокодекоративных и ценных растений, которыми является род *Rhododendron* L. – самый крупнейший в семействе вересковых. Цель данной работы заключается в том, чтобы выяснить какая из существующих сред наиболее оптимальна для представителей рода *Rhododendron*.

Исследования проводились на базе лаборатории микроклонального размножения растений Ботанического сада ННГУ в зимний период 2022 г., и продолжаются до сих пор.

В качестве объектов исследований использовали вечнозеленые сорт *Rhododendron* Helsinky University и гибрид *Rhododendron* hybrid Marianna v. Weizsacker. В работе использовалась питательная среда Woody Plant Medium (WPM), Мурасиге-Скуга (МС) и среда Андерсона (АМ). На каждый сорт и гибрид использовалось по 10 колб каждого варианта среды, в которые пересаживали по 10 растений. Растения культивировались в помещении при световом режиме 16:8 при t 20°C на протяжении 2,5 месяцев.

В результате эксперимента, у сорта *Rh.* Helsinky University показатели выживаемости на средах АМ и МС 10 из 10, на среде WPM 9 из 10. На среде АМ и МС во всех коблах наблюдалось, угнетенное состояние растений, покраснение листьев и полное отсутствие образование побегов II порядка. На среде WPM в 9 колбах наблюдалось обильное образование побегов II порядка – 3-5 у каждого растения.

У гибрида *Rh.* hybrid Marianna v. Weizsacker показатели выживаемости на средах АМ 10 из 10, МС 9 из 10 и на WPM 10 из 10. На среде АМ и МС, несмотря на выживаемость, наблюдалось угнетенное состояние растений. Также, во всех экспериментальных группах наблюдалось образование побегов II порядка, а именно на АМ – 1–2, на МС – 1–3, на WPM – 3–5 побегов.

Таким образом, для сорта *Rh.* Helsinky University и гибрида *Rh.* hybrid Marianna v. Weizsacker наиболее оптимальной средой для размножения является WPM, так как там наблюдалось повышение коэффициента мультипликации и, следовательно, увеличение выхода посадочного материала, что приводит к снижению материальных и трудовых затрат.

В настоящее время исследование продолжается, планируется повторное снятие и анализ результатов спустя 4 месяцев с начала культивирования рододендронов.

# АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОЧАСТИЦ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

***А. Ю. Шишкин*, К. А. Шишкина, Я. Л. Широков, В. Ф. Смирнов, А. В. Корягин**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*uandshi@yandex.ru*

Микрочастицы фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов (цинка, титана и др.) применяются в промышленности (в качестве катализаторов, солнцезащитных средств), в строительстве (как различные добавки в краски, цементы), в медицине и ветеринарии (в качестве антимикробных препаратов, компонентов кремов, мазей и т.д.). Частицы таких оксидов способны разрушать клеточные стенки и мембраны микроорганизмов, ингибировать ферменты т.е. они проявляют антимикробную активность. Под воздействием светового излучения они вступают в различные фотохимические реакции, а их антимикробная активность усиливается. Согласно литературным источникам, усиление антимикробных свойств, в таком случае, связывают с образованием активных форм кислорода (АФК). Большинство простых оксидов фотокаталитически активны при воздействии только УФ-излучения. Получение соединений, активных в видимом спектре света, позволит расширить области их применения. Например, их можно будет использовать для создания самостерилизующихся поверхностей, катализаторов и материалов, защищенных от обрастания микроорганизмами и т.п. В связи с этим целью работы являлось исследование антимикробных свойств новых оксидов $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и оценка образования ими АФК при действии света.

Материалы и методы: микрочастицы $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ полученные в НИИ Химии ННГУ, г. Н. Новгород. Тест культуры микроорганизмов: *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P (Американская коллекция типовых культур, США). Антимикробную активность оксидов (2 мг/мл) оценивали по уменьшению титра суспензии бактериальных клеток. Источник светового излучения мощностью 50 Вт с поверхностной плотностью потока излучения 524 Вт/м$^2$. Образование АФК оценивали Fox-методом и по реакции с иодидом калия.

Результаты: микрочастицы $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ проявляли антимикробную активность, которая усиливалась в условиях освещения. Усиление антимикробной активности исследуемых соединений может быть обусловлена способностью микрочастиц образовывать активные формы кислорода под воздействием света. Частицы исследуемых оксидов способны образовывать гидроперекиси, за счет пероксидных групп на поверхности частиц и, в меньшей степени, свободного пероксида водорода.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023–0024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).*

# АНАЛИЗ ВКЛАДА АПОПТОЗА В ГИБЕЛЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

***Д. Е. Шмакова*, А. А. Горохова, И. В. Балалаева**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*dasha-shmakoffa@mail.ru*

Фотодинамическая терапия (ФДТ) — метод лечения онкологических заболеваний с использованием 3-х исходно нетоксичных компонентов: фотосенсибилизатора (ФС), света и кислорода. Результатом ФДТ является запуск гибели клеток, которая может быть случайной (некроз) или контролируемой (апоптоз, аутофагия, некроптоз и т.д.). Целью данной работы является анализ вклада апоптоза в гибель клеток эпидермоидной карциномы человека при фотодинамическом воздействии с фотосенсом.

Исследование проводилось на клеточной линии A431-Casper3BG, экспрессирующей сенсор активности каспазы-3 Casper3-BG. Принцип работы данного сенсора основан на эффекте FRET между флуоресцентными белками TagBFP (донор) и $TagGFP_2$ (акцептор), входящими в его состав. Расщепление каспазой-3 линкера DEVD, находящегося между двумя флуоресцентными доменами, приводит к нарушению FRET и изменению соотношения флуоресценции акцептора и донора при возбуждении в полосе поглощения последнего.

В качестве фотосенсибилизатора в работе был использован фотосенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»). Предварительно методом МТТ-теста была проанализирована фотодинамическая активность фотосенса в отношении исследуемых клеток и определена концентрация, при обработке которой жизнеспособность культуры снижалась на 50% — $IC_{50}$. Для клеток, обработанных $IC_{50}$, $2\times IC_{50}$, $5\times IC_{50}$ и $10\times IC_{50}$, анализировали развитие апоптоза методом конфокальной микроскопии путем регистрации сигнала сенсора (Axio Observer Z1 LSM-710). Для выявления погибших клеток в среду инкубации был внесен краситель ДНК йодид пропидия (PI), не проникающий в живые клетки с целостной мембраной.

В результате исследования была получена дозовая зависимость количества живых клеток через 24 часа после ФДТ (20 Дж/см$^2$) от концентрации фотосенса. Были выделены несколько групп клеток: «живые» клетки без активированной каспазы-3 или окраски PI, «каспаза+PI-» — клетки, в которых активировалась каспаза-3, «каспаза+PI+» – клетки, в которых активирована казпаза-3 и которые окрашены PI, «каспаза-PI+» — клетки, окрашенные только PI, «сенсор-» — клетки с потерей сигнала сенсора. При обработке клеток в дозе $10\times IC_{50}$ ответ сенсора был зарегистрирован спустя час после облучения (не менее 6% от общей популяции), а пик — спустя 2 часа после ФДТ и составлял примерно 30% от общего числа клеток. К 4 часам после облучения более 40% от всей популяции были «каспаза-PI+», апоптозных клеток не наблюдалось. При сравнении динамики ответа клеток после обработки всеми исследуемыми дозами ($IC_{50}$, $2\times IC_{50}$, $5\times IC_{50}$ и $10\times IC_{50}$) спустя 4 часа после облучения клетки «каспаза+PI-» зарегистрированы только при 5-ти кратной $IC_{50}$ и составляли не более 12% от общей массы клеток.

Таким образом, фотодинамическое воздействие на клетки линии A431-Casper3BG приводит к развитию как апоптоза, так и неапоптотической гибели клеток.

*Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ (договор № 075-15-2022-293).*

# О СВОЙСТВАХ ФИТОМИНЕРАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ И УЛЬТРАДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ *IN VITRO*

***Д. Е. Шошин*[1], *А. М. Камирова*[1], *Е. А. Сизова*[1, 2]**

[1]ФНЦ Биологических систем и агротехнологий РАН, 460000, Оренбург, ул. 9 Января, 29; *daniilshoshin@mail.ru*

[2]Оренбургский государственный университет, 460018, Оренбург, просп. Победы, 13

Ультрадисперсные частицы (УДЧ) и растительные экстракты (фитобиотики, ФБ) все чаще упоминаются в контексте кормления сельскохозяйственных животных как биологически активные добавки. Однако перед введением их в рационы из-за широкого спектра действия необходимо осуществление предварительной оценки in vitro. В связи с чем, целью представленной работы является анализ свой УДЧ оксида кобальта ($Co_3O_4$) и марганца ($Mn_2O_3$), а также экстрактов травы *Origanum vulgare* и коры *Quercus robur* по отдельности и в комплексе в тесте ингибирования бактериальной люминесценции, а также по морфометрическим изменениям в культуре модельного бактериального штамма.

Эксперимент проводили в несколько этапов на базе центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве» ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН. В частности, методом динамического рассеяния света оценивали размер и Z-потенциал УДЧ (ИП Хисамутдинов Р. А.), определяли относительное значение люминесценции рекомбинантного штамма *Escherichia coli* K12 TG1 («НВО Иммунотех») при различной концентрации УДЧ и растительных экстрактов (АО «Красногорсклексредства») в среде, а также их комбинаций. После чего выявляли морфометрические изменения в структуре *E. coli* 25322 после инкубирования в аналогичных условиях с помощью атомного сканирующего микроскопа Certus Standard EG-5000.

Суспензии с содержанием $Co_3O_4$ $6{,}1\cdot10^{-5}$; $3{,}1\cdot10^{-5}$; $1{,}5\cdot10^{-5}$ моль/л подавляли соответственно свыше 80, 50 и 20% люминесценции, а $3{,}8\cdot10^{-6}$ моль/л вела к превышению контрольных значений на 5,9–27,8% на различных этапах эксперимента. Аналогичные концентрации для $Mn_2O_3$ составили, соответственно $6{,}2\cdot10^{-2}$; $1{,}9\cdot10^{-3}$ и $4{,}9\cdot10^{-4}$ моль/л, что на порядок выше и может быть обусловлено, в частности большим размером частиц (среднее геометрическое 1171 против 143,5 нм) и низким Z-потенциалом. При этом в морфологии бактерий были выявлены следующие дефекты: увеличение размеров на 50–70%; изменение рельефа клеточной стенки, появление бугров и впадин, нарушение процессов септирования и формирование «нитчатых форм», утрата цитоплазматического содержимого. В случае же с ФБ ингибирование бактериального свечения наблюдалось лишь при 2 и 4-кратном разведении (до 68,2% клеток подверглось лизису), далее – оно возрастало в кратных количествах. Комбинации же УДЧ + ФБ носили компенсаторный характер.

УДЧ $Co_3O_4$ и $Mn_2O_3$ обладают выраженными бактерицидными свойствами, как и ФБ в высоких концентрациях. При этом биологический эффект от комплекса УДЧ + ФБ варьирует в зависимости от соотношения активных компонентов, но, как правило, обладает промежуточными свойствами, что свидетельствует о молекулярных взаимодействиях.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного Фонда, проект № 22-26-00254.*

# ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА БИОЦЕНОЗА АКТИВНОГО ИЛА ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЙ ГОРОДА КАЗАНЬ

***А. А. Шульникова, Е. С. Балымова, А. Р. Новикова***
Казанский национальный исследовательский технологический университет, 420015, Казань, ул. К. Маркса, 68; *alevtinashul@gmail.com*

Биологическая очистка промышленных и хозяйственно-фекальных сточных вод требует особого контроля, что ставит задачу перед исследователями по поиску методов усовершенствования и интенсификации для обеспечения наибольшей безопасности и предотвращения загрязнения окружающей среды. Основной агент в процессе биоочистки – активный ил, биоценоз которого формируется в зависимости от условий функционирования и состава поступающих на очистку сточных вод. В связи с этим работы, направленные на выявление факторов и причин изменения состава и состояния биоты активного ила, актуальны и позволят выявлять причины отклонения процесса биоочистки от нормы по изменению его состава.

Цель работы – определение родового состава биоценоза активного ила и выявление индикаторных микроорганизмов с учетом фактора сезонности. Объектом исследований является активный ил очистных сооружений ОСК МУП «Водоканал» г. Казань (возраст до 10 суток), отбор проб производился в аэротенке до смешения со сточной водой. В целях получения достоверной информации эксперименты проводились ежемесячно в трехкратной повторности в течении года для учета сменности сезонов. Основной метод исследования – микроскопирование живого неокрашенного препарата при увеличении х100, х400.

По результатам гидробиологического исследования активного ила выявлено 17 родов индикаторных организмов. Наиболее представительным был тип Инфузории Ciliophora. Выявлено 6 родов инфузорий, относящихся к 4 классам: Oligohymenophora, Kinetophragminophora, Peritricha, Polyhymenophora. Наиболее представительным по родовому составу был класс прикрепленных инфузорий Peritricha. Перитрихи являются постоянным и ведущим по численности родов классом среди всех ресничных Ciliata. В активном иле выявлено наибольшее присутствие перифитонных форм инфузорий, что связано с тем, что активный ил представляет собой бактерии, заключенные в слизь – хлопья, которые служат субстратом для прикрепленных инфузорий; большим количеством легкоусвояемых органических загрязняющих веществ в сточных водах, деструкцию которых осуществляют бактерии.

Вторым по численности родов представлен класс коловраток Rotifera. За изучаемый период в исследуемом активном иле выявлено 4 рода коловраток: панцирные – *Lecane*, беспанцирные – *Cephalodella, Habrotrocha, Philodina*. Наличие столь представительного по родам класса коловраток свидетельствует о стабилизации процесса очистки сточных вод.

Настоящие амебы представлены 3 родами: голой амебой *Acanthamoeba*, раковинными амебами *Arcella, Centropyxis*.

Таким образом, в ходе данной работы изучен биоценоз активного ила и выявлены индикаторные микроорганизмы. Выявлены основные закономерности изменения состава простейших в иле с учетом сезонной динамики, пик численности родов приходится на летне-весенний период.

# ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ И НА ФОНЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

***А. М. Шумилова*, *С. В. Трофимова***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*alyona.shumilova02@gmail.com*

Плазменная медицина – сравнительно молодое направление, но плазма разрядов уже нашла применение в стоматологии, хирургии, дерматологии, онкологии. Использование плазмы разрядов в медицинских целях перспективно за счет модуляции ответа организма на воздействие различных режимов плазменной обработки, сопровождающихся генерацией физико-химических факторов, обладающих биологической активностью. Целью работы было исследование влияния излучения газоразрядной плазмы на биохимические показатели крови и мочи интактных животных и животных с острой алкогольной интоксикацией.

Крысы были разделены на 4 группы по 5 животных: 1 – интактные животные без воздействия; 2 – интактные животные + обработка излучением плазмы; 3 – животные с острой интоксикацией этанолом (ОИЭ); 4 – животные с ОИЭ + обработка излучением плазмы. ОИЭ моделировали путем внутрибрюшинного введения 33% этанола в дозе 15 г/кг. Интактным животным вводили физиологический раствор в дозе 15 г/кг. Воздействие проводилось излучением плазмы искрового разряда (100 мкс – длительность одного импульса, $5{,}9 \cdot 10^{-2}$ Дж – энергия в одном импульсе, частота – 10 Гц) на область брюшной стенки крысы в течение 10 минут после наступления наркотического эффекта. Через 24 часа у гепаринизированных животных забирали мочу и кровь. Плазму крови получали центрифугированием при 3000 об/мин в течение 5 минут. В цельной крови определяли концентрацию глюкозы, лактата и гемоглобина с помощью анализатора SUPER GL compact. В плазме крови спектрофотометрически оценивали концентрацию мочевины уреазным методом и креатинина методом Яффе. Общеклинический анализ мочи по 14 показателям выполняли на анализаторе DIRUI H-100.

Выявлено, что воздействие излучением плазмы не приводит к изменению изученных показателей крови и мочи интактных животных. При моделировании ОИЭ у животных наблюдалось развитие протеинурии, увеличение удельной плотности мочи выше 1,03, концентрация креатинина и уробилиногена возрастали на 68,25% и 77,28% соответственно. В крови концентрация лактата увеличилась на 21,22% относительно группы интактных животных. После воздействия излучением плазмы на животных с ОИЭ происходила нормализация показателей крови и мочи. Уровень креатинина и уробилиногена снижались до контрольных значений, обнаруживались только следы белка в моче и удельный вес мочи не превышал 1,02 единиц. Концентрация лактата в крови снижалась с 4,8±0,6 до 3,7±0,6 ммоль/л.

Таким образом, показано положительное воздействие излучения плазмы искрового разряда на организм при острой интоксикации этанолом.

*Работа выполнена при финансировании Министерством науки и высшего образования (соглашение № 075-15-2019-1892).*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ СПИРАЛЬНОЙ ВОЛНЫ НА СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ АНИЗОТРОПНЫХ СВОЙСТВАХ ПОДЛОЖКИ

***С. А. Щербина***
Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Московской обл., Институтский пер., 9; *scherbina_serafima@mail.ru*

В работе была смоделирована система, которая давала широкий коридор критических частот, на которых потенциально может возникнуть волна реентри. Обычное тонкое препятствие дает крайне узкий диапазон таких частот в контроле. Для увеличения коридора критических случаев, при которых реентри возникает, в данной работе изменили структуру самого образца с угловым препятствием, сделав образец анизотропным за счет направленных волокон. Для таких образцов на препятствии формируется подскок волны возбуждения и образуется реентри уже для частоты 3,3 Гц. Реентри по статистике на таких образцах является крайне устойчивой, так как может зацепиться и включить в свое ядро и случайные неоднородности, которые часто встречаются на анизотропных образцах из-за разницы в скоростях проведения.

Было введено 2 типа образца с угловым препятствием: с параллельными волокнами и направленными паттернами волокнами. Для первого случая угол ставился так, чтобы одна из сторон была перпендикулярна направлению волокон. Для второго случая паттерны составлялись таким образом, чтобы они были перпендикулярны друг другу, а внутри каждого паттерна волокна были параллельны и сонаправлены, по аналогии с буквой «Г». Угол для случая с разным направлением параллельных волокон ставился на границе паттернов. Для случая с анизотропией, созданной одними параллельными волокнами, коридор частот возникновения реентри увеличился: самая большая вероятность возникновения была при стимуляции 5 Гц. С вероятностью 5,6% реентри возникало и при частоте 3,3 Гц.

В случае образцов с разным направлением параллельных волокон, коридор частот возникновения реентри в сравнении с просто параллельными волокнами становился больше, но получение реентри стало стабильнее: с вероятностью 7% для частоты 3,3 Гц. Для части образцов, с вероятностью 11%, усвоение ритма стимуляции становилось невозможно уже для 2,5 Гц. Потенциально такие данные могут демонстрировать увеличение коридора критических случаев, особенно для пациентов с мутациями. Для каждой частоты и для образцов с различной анизотропией было проверено более 3 случаев.

Также были проведены эксперименты по возникновению реентри на углу на анизотропных образцах при подаче внешнего электрического стимула с разных сторон угла: вдоль волокон и перпендикулярно им. При стимуляции образца в направлении вдоль волокон отношение скоростей фронтов волны возбуждения составляло $V_{вдоль}/V_{попер} = 1,8$, а при подаче стимула в направлении поперёк волокон наблюдался подскок и разворот волны на большем диапозоне частот, отношение же скоростей составляло 0,65. В первом случае, то есть при подаче импульса вдоль направления волокон, реентри закручивалось на частотах 160-180 мс, в противном случае, то есть при подаче стимула перпендикулярно волокнам, коридор частот реентри составляет от 180 до 250 мс.

# РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОЙ МИКРОСКОПИИ FLIM

***И. Д. Щечкин***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*iliahasa1992@gmail.com*

Флуоресцентная время-разрешенная микроскопия FLIM – это метод исследования, основанный на анализе времен жизни флуоресценции эндогенных флуорофоров, в частности, никотинамидадениндинуклеотида (НАД(Ф)Н). Для описания затухания флуоресценции НАД(Ф)Н используются двухэкспоненциальная или трехэкспоненциальная модели, где параметры t1, t2 и t3 соответствуют временам жизни свободной, связанной и фосфорилированной форм НАД(Ф)Н соответственно, а их вклады описываются относительными амплитудами a1, a2 и a3. Кривая затухания флуоресценции НАД(Ф)Н может служить индикатором метаболических трансформаций: рост a1 коррелирует с усилением анаэробного гликолиза, рост a2 может быть связан с усилением окислительного фосфорилирования, а изменение a3 соответствует изменению синтетической функции ткани. FLIM широко применяется для изучения метаболизма биологических тканей. Современные методы компьютерного анализа способны извлекать больше данных из FLIM-изображений по сравнению с традиционными вариантами и представляют собой применение нейронных сетей (НС) к анализу изображений с целью объективизации результатов и выявления новых метрик анализа структурно-функционального состояния тканей.

Цель работы – разработка алгоритма на основе НС, способного определять характеристики флуоресценции ткани печени по FLIM изображениям.

Для набора FLIM изображений использовали модель регенерации печени (18 крыс Wistar), которую индуцировали путем резекции печени с удалением разного объема (30 и 70% массы) ткани. Печень забирали на 7 сутки после резекции и проводили визуализацию методом FLIM. Конечный пул изображений состоял из 80 изображений контроля; 11 изображений при 30% резекции; 17 изображений при 70% резекции. В программе ImageJ (Fiji) для изображений размечали границы клеток в качестве масок для обучения НС. После чего изображения аугментировали.

Полученный пул использовали как тренировочный для обучения НС, основанной на трехканальном Unet++ с применением многокомпонентной функции потерь, включающей в себя BCA, Focal и Dice функции. НС была обучена находить границы клеток и сами клетки. Далее предсказания использовались для проведения поклеточной Instance сегментации. Точность составила более 0,8. Полученные ROI, представляющие собой отдельные клетки, были использованы для расчета кинетик изменения флуоресценции на основе восстановленных функций SPCImage.

Таким образом, был разработан алгоритм, способный определять границы клеток с высокой точностью, выделять их на FLIM-изображении и рассчитывать соответствующие им параметры флуоресценции: времена жизни компонент и их вклады.

*Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 19-15-00263).*

# ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛА ВЫРАЩИВАНИЯ *RHODIOLA ROSEA* ГИДРОПОННЫМ СПОСОБОМ

***А. В. Щукина*, *К. В. Тюлькевич*, *Э. -О. Амария***
Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
*anastassyachshukina@mail.ru*

*Rhodiola rosea* является ценным лекарственным и одновременно редким исчезающим растением. Поиск путей альтернативных способов ее культивирования с использованием интенсивных технологий выращивания, включающих возможность формирования индивидуальной эффективной среды произрастания, позволяющих решать проблемы круглогодичного производства качественного лекарственного растительного сырья является актуальной задачей. Одним из потенциально-перспективных способов эффективного культивирования *Rh. rosea* является выращивание с использованием гидропонных систем. Целью исследования являлась оценка возможности культивирования *Rh. rosea* методом гидропоники, а также получение посадочного материала в зимний период.

Исследование проводилось в нестерильном помещении, с использованием семян *Rh. rosea* с репродукций СибБС ТГУ, аэро-гидропонной установки замкнутого типа, питательных растворов: Хогланда в концентрации 50% и 100% и раствора по Эллису в концентрации 50% и 100%.

Всхожесть определяли на 5 день. Контрольные морфометрические показатели определяли на 32 день. Для оценки перспективности выращивания рассады *Rh. rosea* в зимний период, на 57 день выращивания на гидропонике, осуществлена пересадка в необеззараженный грунт (цветочный грунт и песок в соотношении 1:1). Оценка приживаемости сеянцев в необеззараженном грунте производилась на 21 день с момента пересадки.

В ходе исследования отмечена положительная динамика влияния питательного раствора по Эллису в концентрации 50% на всхожесть семян (87%) и морфометрические показатели. Применение раствора Хогланда в концентрациях 100% и 50% показало одинаково низкие результаты всхожести семян (34%).

При культивировании на аэро-гидропонной установке, у сеянцев *Rh. rosea*, наблюдалось неинфекционное хлорозное поражение на всех вариантах опыта, однако в варианте опыта с раствором по Эллису в концентрации 50% хлороз был наименее выражен.

Приживаемость в необеззараженном грунте после культивирования на питательном растворе по Эллису (концентрация 50%) составила 62%, в сравнении с 100% концентрацией раствора по Эллису (приживаемость 52%) и раствором Хогланда (0%).

Полученные результаты демонстрируют высокий адаптационный потенциал *Rh. rosea* и необходимость проведения дальнейших исследований. Доказана возможность ее культивирования методом гидропоники и возможность получения посадочного материала в зимний период.

# ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЖИТЕЛЕЙ ЯКУТИИ

***И. И. Юсипов*, А. И. Калякулина, Е. В. Кондакова, М. В. Ведунова, М. В. Иванченко**
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*yusipov.igor@gmail.com*

Якуты (саха) – народ, проживающий на субарктических и арктических территориях Восточной Сибири. Популяции, выживающие в экстремальном климате в течение тысяч лет, могли накопить генетические изменения, адаптирующие их к холодному климату. Существуют исследования сибирских популяций, в которых были выявлены гены, связанные с адаптацией к холоду, с энергетической и метаболической регуляцией и сокращением гладкой мускулатуры сосудов. Однако генетические исследования сибирских популяций часто ограничиваются изучением митохондриальной ДНК и Y-хромосомы.

В данном исследовании производится анализ данных полногеномного метилирования жителей Якутии. Факторы окружающей среды могут влиять на изменения важного эпигенетического маркера – метилирования ДНК. Ранее обнаруженные эпигенетические различия, зависящие от солнечного облучения, позволяют предположить аналогичную зависимость от воздействия низких температур. Информация о метилировании ДНК позволяет оценить текущую генетическую активность и дает представление о функциях генов, которые вносят вклад в фенотипическую вариативность. Различные частоты определенных генетических вариантов могут приводить к эпигенетическим различиям между этносами и формировать специфические паттерны эпигенетического старения. Метилирование ДНК как биомаркер состояния здоровья отражает влияние социально-экономических условий на физиологические и клеточные пути восприимчивости к различным заболеваниям. Одним из наиболее известных механизмов отслеживания изменений в метилировании ДНК являются эпигенетические часы - модели, агрегирующие информацию об ограниченном наборе CpG-сайтов и используемые для построения оценок эпигенетического возраста и риска смертности.

В данной работе были исследованы эпигенетические различия между двумя группами людей – здоровых субъектов из центрального региона России (Нижегородской, Московской и Владимирской областей, всего 131 человек), а также здоровых субъектов из Якутии (119 человек). Обнаружена статистически значимая положительная возрастная акселерация в регионе Якутия. Выявлены эпигенетические механизмы, связанные с адаптацией к холоду.

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ДЕЗОКСИГИПУЗИНСИНТАЗЫ *CANDIDA ALBICANS*

***А. Ф. Юсупова*, Э. Э. К. Агбиогба, Ш. З. Валидов, К. С. Усачёв**
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*amina-yusupova-2013@mail.ru*

*Candida albicans* – патоген, который у людей с ослабленным иммунитетом способен вызывать системные инфекции вплоть до сепсиса. В последнее время наблюдается высокая резистентность представителей рода *Candida* к воздействию противогрибковых препаратов, из-за чего необходим поиск новых способов терапии путем фармакологического подавления молекул, отвечающих за синтез белков в клетке. Одной из таких молекул является фермент дезоксигипузинсинтаза (DHS), который важен для функционирования клеток эукариот, так как участвует в реакции гипузинирования, необходимой для активации эукариотического фактора инициации трансляции (EIF5A). Целью данного исследования является установление структурных характеристик дезоксигипузинсинтазы *C. albicans*.

В ходе исследования было проведено клонирование гена DHS в плазмиду pET-Gb1 и его дальнейшая трансформация в компетентный штамм BL-21 *Escherichia coli*. В последующих этапах работы рекомбинантные колонии *E. coli* пересеяли в жидкую питательную среду и осуществили экспрессию целевого белка, после чего выделили дезоксигипузинсинтазу и подвергли ее очистке методами Ni-NTA и гель-фильтрационной хроматографии.

С помощью молекулярного фишинга убедились, что белок, полученный в ходе работы, сохраняет нативную конформацию, так как способен эффективно связываться с субстратом. Для дальнейшего определения структурных характеристик фермента использовали метод малоуглового рентгеновского рассеяния.

В результате проделанной работы были получены образцы дезоксигипузинсинтазы высокой степени очистки и подобраны оптимальные условия экспрессии фермента. В ходе исследования было установлено, что в нативной конформации дезоксигипузинсинтаза представляет собой гомотетрамерную молекулу.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (грант № 20-65-47031).*

# 3D-БИОПЕЧАТЬ МИОБЛАСТОВ ЛОШАДИ

***А. К. Юферова***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*garomfi@gmail.com*

Воспроизведение мышечной ткани *in vitro* достаточно трудоемкий процесс. Это обусловлено сложным расположением клеток, наличием внеклеточного матрикса, белков, питательных веществ и факторов роста. Недавно была разработана технология 3D-биопечати, которая стала важной частью биоинженерии. Биопринтинг является перспективной технологией для воспроизведения мышечной ткани. Он позволяет создавать каркасы, в которых формируются мышечные волокна.

В настоящем исследовании изучалась возможность биопечати мышечной ткани из миобластов лошади. Миобласты лошади были получены от лошади 2,5 лет. Работа выполнена в соответствии с разрешением Этического комитета Казанского федерального университета (разрешение № 3 от 5 мая 2015 г.). Разрешение на операцию и забор тканей получено от владельца, биопсия взята в ветеринарной клинике Казанского ипподрома. Для идентификации клеточных популяций использовали следующие антитела: анти-MYH ½, анти-миогениновые, анти-PAX7, антидесмин и анти-Ki67. Клетки анализировали с помощью проточной цитометрии (Guava 8T, Millipore, США). Биопечать образцов проводили на биопринтере CELLINK Inkredible. Состав для биопринтинга состоял из 5,5 млн миобластов на 1 мл биочернил GelMa. Полученную смесь распечатывали по 100 мкл в культуральные планшеты, промывали раствором сшивающего агента, а затем физиологическим раствором. Затем образцы, содержащие миобласты лошади, заливали в питательную среду и культивировали в течение 40 сут в $CO_2$-инкубаторе при 37°C. Ростовую среду меняли каждые 3 дня. Пролиферативную активность клеток выявляли иммуноокрашиванием на 3, 7, 14 и 40 сутки культивирования. Образцы окрашивали анти-Ki67 и анализировали с помощью Axio Observer Z1.

С помощью биопринтера была напечатана квадратная форма высотой 5 мм и площадью 1 $см^2$. Полученные образцы хорошо сохраняли объемную форму и крепились к пластиковой подложке. Кроме того, образцы не деформировались под действием питательной среды, физиологического раствора и сшивающего агента. Через 7-14 дней культивированные образцы отделялись от пластика и плавали в питательной среде. Иммуноокрашивание с использованием Ki67 показало значительное снижение клеточной пролиферации через 40 дней после биопечати. На 40-й день культивирования миобласты не проявляли митотической активности.

Таким образом, исследование показало, что 3D-биопечать возможно успешно применять для печати миобластов лошади. В дальнейшем планируется исследовать способы улучшения выживаемости клеток после печати.

*Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (Приоритет-2030).*

# ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ

***Л. Л. Ядыкова*, *А. Р. Каюмов***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*milayesyad@gmail.com*

Возбудители заболеваний группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, виды *Enterobacter*) являются ведущей причиной внутрибольничных инфекций во всем мире. Большинство из них представляют собой штаммы бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, что является одной из больших проблем в клинической практике. В работе мы провели сравнительную оценку наличия фенотипической устойчивости грамотрицательных штаммов бактерий *P. aeruginosa* и *Escherichia coli* и наличия у них генов устойчивости к антимикробным препаратам.

Фенотипическую оценку проводили с помощью диско-диффузионного метода. Чувствительность штаммов проверяли к азлоциллину, азтреонаму, гентамицину, левофлоксацину, пиперациллину, томбрамицину и цефтазидиму. Генотипическую оценку проводили с помощью ПЦР. Для этого выделили геномную ДНК из изолятов с использованием фенол-хлороформа. ПЦР проводили с использованием следующих праймеров: mexB, mexD, mexY, ampC, aac3-IIa, aphA1, aadB, rpsL. Идентифицировали продукты амплификации с помощью гель-электрофореза.

В работе проведено исследование 15 штаммов *P. aeruginosa* и 6 штаммов *E. coli*. Результаты фенотипический оценки совпадали с генотипическим анализом у большинства штаммов. Различия между ними могут говорить о возможном возникновении альтернативных методов защиты бактерий.

Определение устойчивости к антимикробным препаратам у бактерий говорит о необходимости строгого контроля использования антибиотиков в медицинских учреждениях, проведения оценки антибиотикорезистентности перед применением антимикробных препаратов.

*Выражаем благодарность НОЦ фармацевтики КФУ и Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии за предоставление штаммов бактерий.*

# СИНТЕЗ ЛИПИДА-ХЕЛПЕРА НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

***О. А. Яковлев*, *П. А. Пучков*, *М. А. Маслов***
МИРЭА – Российский технологический университет, 119454, Москва, просп. Вернадского, 78;
*Oleg216yan@yandex.ru*

Генная терапия – перспективное направление лечения наследственных и приобретенных заболеваний. Она основана на введении терапевтических нуклеиновых кислот (ТНК) в организм посредством специальных систем доставки с целью направленного изменения функций генов. В качестве невирусной системы доставки используются катионные липосомы, которые конструируют на основе липофильных компонентов. Катионные липосомы обладают рядом преимуществ: сходство с химическим составом мембран клеток, низкая цитотоксичность, возможность варьирования размеров, низкая иммунногенность, биодеградируемость.

Основным компонентом катионных липосом являются катионные амфифилы, которые связываются с отрицательно заряжёнными ТНК и отвечают за их перенос в клетку. В качестве дополнительного компонента можно использовать липиды-хелперы, которые способствуют формированию липосом, их слиянию с клетками и более эффективному высвобождению ТНК в цитоплазме. Наиболее распространенным липидом-хелпером является 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (DOPE), который способствует высокой эффективности *in vitro,* но не обладает достаточной стабильностью *in vivo*, поэтому существует необходимость в поиске более устойчивых аналогов. В данной работе нами был получен новый бесфосфорный липид-хелпер на основе природной L глутаминовой кислоты.

Синтез осуществлялся в несколько стадий. В начале активировали ОН-группу изопропилиденглицерина действием карбонилдиимидазола, а карбоксильные группы L глутаминовой кислоты блокировали бензильной защитой. На следующей стадии проводили конденсацию производного глицерина и дибензилглутамата. Затем удаляли изопропилиденовую защиту и продукт ацилировали жирными кислотами в присутствии DCC. Удаление бензильной защиты приводило к образованию целевого соединения.

Таким образом, был получен новый липид-хелпер, который будет использован для создания катионных липосом с последующим изучением физико-химических характеристик, стабильности при хранении и проведением биологических испытаний.

*Исследование проводится при поддержке Фонда содействия инновациям по программе УМНИК в рамках договора 17456ГУ/2022 от 26.04.2022.*

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕРАПИИ VX НА ДИНАМИКУ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СПИННОГО МОЗГА НА МЫШИНОЙ МОДЕЛИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

***А. С. Яковлева*, *М. А. Голубенко***
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
*alena-yakovleva9@list.ru*

Рассеянный склероз (РС) – хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся разрушением миелиновых волокон в ЦНС и формированием очагов демиелинизации. Характерные признаки РС – обширный астроглиоз и микроглиоз, дегенерация нервных клеток, гибель олигодендроцитов, нарушение проводимости нервных волокон и проявление клинических симптомов. Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (EAE) является экспериментальной моделью РС. На данный момент лекарственные препараты для пациентов с РС могут только влиять на течение заболевания. Разработка препарата, эффективного в терапии РС, имеет важное значение для сферы здравоохранения. VX представляет особый интерес для исследования в качестве противовоспалительного агента, ингибирующего нейровоспаление.

EAE был индуцирован на мышиной модели путем введения MOG+PTX мышам в возрасте 6-ти недель. В качестве отрицательного контроля были использованы интактные мыши того же возраста. VX был введен в хвостовую вену путем однократной инъекции на 7 день после индукции EAE. В качестве положительного контроля были использованы интактные мыши, получившие лечение VX. Были исследованы клеточные популяции микроглии (Iba1) и астроглии (GFAP) в сером и белом веществе поперечных срезов спинного мозга мышей с EAE на доклинической, клинической и терминальной стадии заболевания, мышей, получивших терапию VX, а также мышей дикого типа. Методом иммунофлюоресцентной конфокальной микроскопии был проведен морфометрический и количественный анализ популяций глиальных клеток на каждой стадии. Для обработки результатов и статистического анализа были использованы программы ImajeJ и GraphPad Prism.

Количественный анализ показал, что по мере развития РС происходит увеличение количества реактивных астроцитов и микроглиальных клеток по сравнению с интактным контролем. Однако при введении VX на 21 день происходит сокращение числа реактивных астроцитов по сравнению с животными с EAE, не получившими лечение, на доклинической стадии - в 1,4 раза; на клинической – в 2,4 раза, на терминальной - в 2,8 раза. Также наблюдалась тенденция к сокращению количества микроглиальных клеток по сравнению с группами животных, не получивших лечение VX. Достоверное сокращение числа реактивной астроглии у животных с EAE, получивших лечение VX, свидетельствует о противовоспалительном эффекте VX, который может быть обусловлен механизмом действия VX, ингибирующего активацию каспазы-1 и секрецию провоспалительных цитокинов. Отсутствие однозначного эффекта VX на микроглию может говорить о возможной поляризации микроглии в фенотип М2. Таким образом, VX является потенциально перспективным препаратом при терапии РС; вместе с тем, необходимо дальнейшее изучение процессов и цитокинового профиля на стадиях заболевания и при терапии VX.

# ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ АСТРОЦИТАРНЫХ КУЛЬТУР ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТАРЕНИЯ И ГИПОКСИИ *IN VITRO*

***Л. Э. Яруллина*, *А. М. Пахомов, М. И. Кривоносов, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина***
Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*yarullinalia1@mail.ru*

Старение является основным фактором риска для развития большинства распространенных нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и др. Известно, что в развитии нейродегенеративных процессов, ассоциированных с возрастом, важную роль играет гипоксия. В последние годы большой интерес исследователей вызывает изучение возрастных изменениях не только в нейронах, но и в клетках глии, прежде всего в астроцитах. На сегодняшний день об особенностях активности астроцитов в стареющем мозге известно крайне мало, поэтому целью нашей работы стало изучение функциональной кальциевой активности астроцитарных культур при моделировании старения и гипоксии *in vitro.*

Объектом исследования явились первичные культуры астроцитов коры головного мозга, полученные от новорожденных мышат (P1-P6) линии C57BL/6. Регистрация динамики кальция проводилась методом флуоресцентного кальциевого имиджинга, который для нервных клеток считается наиболее информативным при изучении метаболической активности нейронной сети. Активность «молодых» культур регистрировалась на 21 день культивирования (DIV), «старых культур» – на 150–157 DIV. В качестве кальциевого сенсора использовался Oregon Green 488 Bapta FM (ThermoFisher, США). Регистрация временных серий изображения выполнялась на конфокальном сканирующем микроскопе Zeiss LSM 800 (Carl Zeiss, Германия) с частотой 3 кадра в секунду. Полученные данные были обработаны в программе Astrocyte Laboratory (свидетельство о госрегистрации программы ЭВМ 2021612870 от 25.02.2021). Детектирование событий кальциевой активности и поиск их границ проводились как алгоритмами Astrocyte Laboratory, так и другими алгоритмами выделения кальциевых событий, реализованными независимо на платформе MATLAB. Статистический анализ результатов был произведен на основе программного обеспечения GraphPad Prism 6 и статистического алгоритма реализованного на языке программирования Python.

Показано, что физиологическое старение приводит к достоверному ($p \leq 1.00e-04$) сниж ению количества передач сигнала между клетками культуры. Моделирование гипоксии у «мо лодых» культур вызывала достоверное снижение числа передач сигнала по сравнению с инта кными культурами, в то время как у «старых» астроцитарных культур гипоксия напротив при водит к увеличению числа передач сигнала. Также у «старых» культур относительно «молод ых» выявлено достоверное снижение следующих параметров: степень корреляции активност и соседних клеток, скорость распространения сигнала, процента активных клеток, частота во зникновения кальциевых событий. В то же время в старых культурах, подвергшихся гипокси и, длительность кальциевых событий значимо увеличилась ($1.00e-03 < p \leq 1.00e-02$). Таким о бразом, нами показано угнетение функциональной активности «стареющих» астроцитов и на рушение кальциевой межклеточной сигнализации и уровня корреляции кальциевой активнос ти *in vitro*. Кроме того, выявлены отличия в ответе «молодых» и «старых» астроцитов на гипо ксическое воздействие. Дальнейшие исследования будут направлены на более глубокое изуче ние функциональной кальциевой активности астроцитарных культур при моделировании ста рения и гипоксических повреждений.

*Работа выполнена в рамках государственного задания (код проекта FSWR-2023-0032).*

# АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ


Абакумова Т. О. ..... 25, 231, 311
Абашева К. Р. ..... 4
Абдеев Р. Р. ..... 342
Абдо Ш. Ф. ..... 5
Абдуллаев Ф. Ф. ..... 6
Абдурахманова М. М. ..... 7
Абржина А. А. ..... 328
Агбиогба Э. Э. К. ..... 369
Агеева М. Н. ..... 127, 230
Адонина С. Н. ..... 8, 287
Ажогина Т. Н. ..... 209, 238
Аитова А. А. ..... 24
Айриянц К. А. ..... 227
Акасов Р. А. ..... 330
Аксенов-Грибанов Д. В. ..... 305
Аксёнов-Грибанов Д. В. ..... 31, 65, 141
Александров А. И. ..... 115
Александрова Н. А. ..... 39
Алексеев А. А. ..... 9
Алексеева А. Е. ..... 81
Алексеева А. И. ..... 98
Алилова О. Р. ..... 10
Алферов С. В. ..... 23, 327
Алшиха А. ..... 11
Амария Э. -О. ..... 367
Анатольевич П. П. ..... 21
Андреева Т. Е. ..... 260
Андриянов П. А. ..... 159, 212
Аникина Н. А. ..... 26
Анисимова Е. А. ..... 73
Антоненко А. Н. ..... 175
Антонова Д. Д. ..... 13
Антонова О. Ю. ..... 25
Антонян А. Э. ..... 46
Ануфриева А. И. ..... 14
Арестова Ю. С. ..... 40
Арефьева А. Б. ..... 106, 223
Артеага Б. Д. ..... 15
Артюхов В. Г. ..... 32
Архарован Н. А. ..... 174
Архипова С. С. ..... 86
Асадуллина Д. Д. ..... 134
Асеян К. К. ..... 107
Асманкина В. С. ..... 16
Астафурова Т. П. ..... 242
Аторин Д. А. ..... 117
Ахмеджанова К. Г. ..... 82
Ахмедзянов Р. В. ..... 307
Ахметзянова Р. Р. ..... 285
Ахметов И. И. ..... 107
Ахметова Ж. Н. ..... 148
Ашутова Е. А. ..... 17
Бабайкина О. Н. ..... 114
Бабина Д. Д. ..... 150, 255, 256, 331
Багрова О. Е. ..... 18
Баданина Д. М. ..... 19
Баева А. С. ..... 20
Баева Е. С. ..... 32
Баженов А. Е. ..... 21
Базовкина Д. В. ..... 8, 223, 240, 287
Байбазаров Р. Р. ..... 22
Байдамшина Д. Р. ..... 123, 211
Байков И. К. ..... 185
Баймлер И. В. ..... 48
Бакиев А. Г. ..... 298
Баклагина С. П. ..... 23
Бакуменко С. С. ..... 24
Балалаева И. В. ..... 45, 78, 108, 155, 156, 282, 293, 317, 357, 361
Балымова Е. С. ..... 74, 329, 363
Балышева К. Д. ..... 25, 311
Баранов С. А. ..... 292
Барышков Р. В. ..... 26
Батенькин М. А. ..... 109
Баушева Д. К. ..... 27, 317
Бедерина Е. Л. ..... 339
Безруков Н. А. ..... 28, 295
Беленикин М. С. ..... 175
Белов А. А. ..... 29
Белова Е. В. ..... 18
Беловежец Т. Н. ..... 7
Белослудцев К. Н. ..... 352
Белотелов А. Б. ..... 171
Белотелов А. О. ..... 47, 75
Белоусов В. В. ..... 25
Белых Д. В. ..... 30, 75
Белых Е. С. ..... 268, 273
Белых Н. Д. ..... 30
Белышенко А. Ю. ..... 31, 65, 141
Бельских М. В. ..... 32
Бельтюкова А. В. ..... 324
Беляева К. Л. ..... 99
Бердникова О. С. ..... 33
Бережнев Е. А. ..... 34
Бережной А. К. ..... 284
Березина Е. В. ..... 147, 179, 187, 190, 215, 274, 350
Беренцева С. В. ..... 35
Берстнева М. Д. ..... 21
Бикбова Э. Р. ..... 107
Бирюкова Д. Д. ..... 36
Битаришвили С. В. ..... 150
Благонравова А. С. ..... 312
Блинова Ю. В. ..... 37
Блинова Я. А. ..... 38, 150, 331
Бобков Я. Н. ..... 291
Бобров Н. В. ..... 272
Боброва Д. И. ..... 39
Бобык С. З. ..... 28
Богатырев М. А. ..... 40
Богомолова А. Ю. ..... 41

Большакова А. Д. ....42
Большакова Н. П. ....128
Бондаренко В. С. ....331
Бондаренко Д. М. ....304
Бондаренко Е. В. ....150, 256, 331
Бондарчук Е. О. ....175
Бондарь Н. П. ....227
Бочарин И. В. ....43, 323
Бояринов Г. А. ....132
Брезгина В. С. ....231, 311
Брилкина А. А. ....100, 127, 147, 250, 274, 314
Бруслик Н. Л. ....44
Брюхин Г. В. ....232
Бугрова М. Л. ....232
Бугрова Ю. С. ....45
Будруев И. А. ....46
Букреева Т. В. ....36, 243, 313
Булатов Э. Р. ....51, 80
Буреев П. А. ....46
Бурмистров Д. Е. ....48
Бурмистров И. А. ....313
Бушкова В. С. ....49
Ваганова С. О. ....50
Валеева Е. В. ....107
Валеева Л. Р. ....280
Валидов Ш. З. ....369
Валиуллина А. Х. ....51
Валова Я. В. ....343
Вальков И. Н. ....52
Ванцева О. А. ....53
Варакина Е. Д. ....54
Васильева А. В. ....117
Васильева А. С. ....55, 219
Васильева Ю. А. ....57, 79
Васильчикова Е. А. ....58, 109
Вахрушева Ю. С. ....59
Ведунова М. В. ....63, 93, 96, 151, 283, 316, 368, 374
Велегжанинов И. О. ....30, 268, 273
Великжанина Е. И. ....60
Веретенов И. И. ....61
Верещагин М. В. ....340
Вершинина Е. Р. ....62
Вершинина О. С. ....63
Веселова Т. А. ....113, 288, 295
Ветрова А. А. ....64
Ветрова Я. А. ....6, 225
Владимиров Г. К. ....194
Владимова Е. О. ....113
Власов М. Ю. ....160, 196
Власова А. А. ....65, 305
Власова А. О. ....277
Воденеев В. А. ....6, 100, 127, 133, 187, 225, 230, 250, 251, 293
Воденеева Е. Л. ....37, 84, 118, 294
Водопьянова Е. В. ....66
Волков К. С. ....67
Волкова Д. А. ....68
Волкова Е. С. ....333
Волкова М. В. ....69
Волкова П. Ю. ....38, 71, 150, 255, 256
Воловецкий А. Б. ....82, 317
Вологин С. Г. ....235
Володяев И. В. ....194
Волынец Г. А. ....179
Воробьёва Д. Е. ....70
Воронежская В. С. ....71, 150, 255
Воронина В. П. ....341
Воронина Д. С. ....72
Воронина Е. В. ....114
Воронцов А. Ю. ....339
Воронцов Д. А. ....339
Воронцова Ю. Е. ....121
Воротеляк Е. А. ....83, 221
Ворохобова О. А. ....17, 161
Воскресенская О. Л. ....103, 236
Гаврилко Д. Е. ....270
Гаврилова Е. А. ....73
Гаврина А. И. ....164
Гайнетдинова Р. Р. ....74
Галимов М. А. ....338
Галиуллин А. К. ....123
Галлямов А. А. ....115
Галлямова Л. Ф. ....342
Галочкина Н. Е. ....47, 75
Гамаюнов С. В. ....339
Ганеева И. А. ....51
Гаптулбарова К. А. ....76, 102, 173, 345
Гатина А. Э. ....140
Гафарова Л. Ф. ....211
Геллер К. А. ....77
Герасимова С. А. ....324
Гервас П. А. ....218
Гефтер С. Д. ....78, 156
Гилазиева З. Е. ....143
Гильмутдинова А. И. ....57, 79
Гильфанов И. Р. ....167
Гильфанов Э. Р. ....276
Гилязова Г. Р. ....134
Гилязова И. Р. ....134
Гилязова Э. М. ....80
Глаголева Е. В. ....358
Гладкова Н. Д. ....339
Глазкова Н. С. ....81
Глявина А. М. ....82
Говорова И. А. ....83
Головин А. В. ....98
Головина В. В. ....84
Голубев Д. А. ....85, 129, 180
Голубенко М. А. ....86, 373
Горбунова А. А. ....85
Гордеева Е. И. ....180
Горелов Р. А. ....298
Горохова А. А. ....45, 361

Горохова Е. А. ..... 87
Горшкова А. С. ..... 140
Горшкова Е. Н. ..... 181, 184, 266
Горячева Р. Г. ..... 88
Гостюхина А. А. ..... 207
Гребнева К. В. ..... 4
Григорьева Н. Ю. ..... 164
Григорьева Т. В. ..... 192
Григорьева Ю. Д. ..... 89
Гринберг М. А. ..... 133, 230, 250, 251
Гришин А. С. ..... 302
Грознова О. С. ..... 175
Губарькова Е. В. ..... 339
Губейко А. ..... 90
Гудков С. В. ..... 48
Гурова О. М. ..... 91
Гурьев Е. Л. ..... 27, 155, 282, 317
Гурьянов М. С. ..... 43
Гурьянова А. С. ..... 92
Гусева Е. А. ..... 93
Гусева К. Е. ..... 94
Давлетшин Д. Р. ..... 80
Давлетшин Е. В. ..... 352
Давлетшин Э. В. ..... 213
Давыдов Д. И. ..... 95
Давыдова Е. А. ..... 96, 316
Давыдова Н. Н. ..... 97
Данилова Д. А. ..... 101, 257, 258
Данилова Ю. В. ..... 79
Деев С. М. ..... 155
Дейкин А. В. ..... 231
Демин И. Ю. ..... 217
Демина Г. В. ..... 11
Дерюгина А. В. 29, 101, 105, 111, 112, 132, 186, 257
Джавахия В. В. ..... 358
Дзариева Ф. М. ..... 98
Диденко Н. В. ..... 99
Димитриева А. А. ..... 100, 250
Дмитриева М. Е. ..... 31, 141
Дойникова Ю. А. ..... 101
Долгашева Д. С. ..... 76, 102, 173, 345
Доронина М. А. ..... 72
Дорощук Н. А. ..... 175
Дрангой А. В. ..... 103
Дружкова И. Н. .53, 244, 245, 263, 286, 290, 299
Дрюккер В. В. ..... 140
Дубенская Н. А. ..... 104
Дубинин М. В. ..... 137, 213, 352
Дунаевская А. А. ..... 105
Дядькина И. В. ..... 57, 79
Евсеева С. С. ..... 207
Евсюкова В. С. ..... 106
Егорова М. Д. ..... 302
Егорова Э. С. ..... 107
Ежелев З. С. ..... 285
Елагин В. В. ..... 46
Елагина Д. М. ..... 108
Еланцева В. С. ..... 305
Емшанова В. А. ..... 31
Епифанова Л. А. ..... 301
Епифанова Н. В. ..... 60, 239
Ерзутов А. И. ..... 29, 111
Ермакова П. С. ..... 41, 58, 109
Ермакова Т. В. ..... 110
Ермохина О. Н. ..... 111
Еробкина Д. А. ..... 112
Ершова А. Н. ..... 33
Ефимова С. С. ..... 66, 204
Ефремов Ю. М. ..... 50, 78
Жаркова Г. В. ..... 113, 288
Жарова А.-М. Д. ..... 114
Жассем З. М. ..... 271
Жигарьков В. С. ..... 115
Жиляева Т. В. ..... 312
Жирова Д. В. ..... 116
Жихарев В. С. ..... 270
Жуков В. В. ..... 283
Жукова Е. С. ..... 312, 348
Жулай Г. А. ..... 117
Журавлева Д. Э. ..... 148
Журавлева Е. А. ..... 216
Журавлева М. Н. ..... 51
Журилов П. А. ..... 162, 318
Журова Д. А. ..... 118
Заблоцкий А. В. ..... 61
Заборская О. Г. ..... 119
Заботин Я. И. ..... 120
Заволока Е. Л. ..... 121
Завьялов С. Н. ..... 122, 232
Загайнов В. Е. ..... 109, 272
Загайнова Е. В. ..... 109, 138, 272
Задорина И. И. ..... 123
Зазнобина Н. И. ..... 42, 163, 178
Заика А. С. ..... 124
Заиченко И. Е. ..... 114
Зайцев В. Ю. ..... 339
Зайцев Д. Е. ..... 125, 189, 210
Закарова Н. Д. ..... 126, 214
Замалиева Ф. Ф. ..... 334
Занегина Д. А. ..... 127, 250
Захаров А. В. ..... 306
Захарова А. Н. ..... 149
Зверева С. П. ..... 7
Звягин А. В. ..... 50, 317, 330
Звягина Н. В. ..... 346
Здобнова Т. А. ..... 78, 108, 147, 156, 251
Зеленкина О. В. ..... 128
Земская Н. В. ..... 85, 129, 253
Злобина Ю. А. ..... 130
Змиевская Е. А. ..... 51
Золин Ю. А. ..... 4, 131
Золотопуп А. А. ..... 175
Ибрагим Ахмад ..... 353

Ибрагимова М. К. .....76, 173, 345
Иванов А. С. .....132
Иванова А. В. .....133, 251
Иванова Е. А. .....134
Иванова И. П. .....16, 326
Иванова П. И. .....33
Иванова Т. С. .....135
Иванова Ю. В. .....348
Иванченко М. В. .....63, 368
Иващенко М. Н. .....29, 105, 111, 186
Игнатова Н. И. .....46, 244, 245, 263, 299
Игнатьева М. М. .....136
Игошкина А. Д. .....137
Измайлов А. А. .....134
Изосимова А. В. .....53, 138
Изюмов И. С. .....221
Иконников А. В. .....139
Ильзоркина А. И. .....352
Ильина И. В. .....140
Ильчибаева Т. В. .....89, 279
Имидоева Н. А. .....31, 65, 141
Инчагова К. С. .....142
Иркаева А. М. .....312
Исаева К. О. .....143
Исайкин Н. А. .....144
Исакова К. В. .....145
Искужина Л. И. .....146
Исмаилова А. А. .....147, 274
Исхакова З. И. .....148
Кабачкова А. В. .....149, 356
Казаков А. А. .....14
Казакова Е. А. .....38, 71, 150, 255
Калабушева Е. П. .....221
Калинина Е. П. .....151
Кальясова Е. А. .....17
Калякулина А. И. .....368
Каменский В. А. .....46
Камирова А. М. .....362
Карабут М. М. .....176
Карандин Г. А. .....152
Карасева А. Ю. .....153
Карасева О. С. .....73
Каримов Д. Н. .....174
Каримова А. В. .....214
Каримова Р. Г. .....87, 193
Карпенко Е. А. .....154
Карпова М. А. .....155
Карпова Н. В. .....358
Карпушин М. Ю. .....78, 156
Карунас А. С. .....22, 277
Карчков Д. А. .....157
Кастальский И. А. .....264
Катраева И. В. .....216
Кашина А. А. .....158
Кашина А. В. .....41, 58, 109
Кашина Д. Д. .....159, 212, 318
Кашников А. Ю. .....60
Каюмов А. Р. ....73, 123, 126, 140, 148, 167, 211, 214, 276, 322, 371
Киселева Е. Б. .....170
Кистенев Д. И. .....160
Китаева К. В. .....143
Клапшина Л. Г. .....47, 357
Клепиков В. А. .....161
Климентьева Е. А. .....162, 212
Князева А. В. .....172
Ковалева Т. А. .....163
Коваль О. А. .....7
Козлов Д. С. .....164, 176, 272
Козлова А. А. .....165
Козляева Е. В. .....95
Колесников А. А. .....166
Колесникова А. И. .....167
Колесникова Е. М. .....276
Колесникова М. М. .....208
Колесова Н. Е. .....292
Колышкина С. В. .....168
Комарова А. А. .....169
Комарова А. Д. .....170, 286, 290
Комкова М. А. .....25
Кондакова Е. В. .....368
Кондаурова Е. М. .....89
Кондратьева А. Р. .....53
Коновалов А. С. .....305
Кононова Г. А. .....218
Кононова У. А. .....171
Конторщикова К. Н. .....19
Копылова С. В. .....14, 258, 304
Копытова Т. В. .....302
Кордюкова М. Ю. .....25, 311
Корженков А. А. .....139
Королева Ю. В. .....5
Коростелева А. В. .....343
Коротченко С. А. .....95
Корягин А. В. .....360
Косенко Н. Р. .....172
Кост В. Ю. .....301
Костенко В. В. .....291
Котелевцев Ю. В. .....231, 311
Котихина Е. Е. .....157
Кощеева В. М. .....17
Кравцова Е. А. .....76, 102, 173, 345
Кравченко Г. А. .....13, 39
Красильникова Е. В. .....99
Краснов А. А. .....267
Кремнёв С. В. .....64
Кривоносов М. И. .....158, 374
Криворотько П. В. .....339
Крикунова П. В. .....174
Криницына А. А. .....175
Крутова К. К. .....303
Крылов Д. П. .....164, 176, 272
Крылова А. А. .....177
Крылова Е. В. .....153, 258

Крылова Л. В.....155
Крылова П. С. .....331
Ксенофонтов А. А.....148
Кубарева А. М.....154
Кузнецова Д. А. .....302
Кузнецова Д. В.....187
Кузнецова Д. С.....164, 176, 272
Кузнецова И. М.....178
Кузьмина А. В.....179
Кузьмина Д. М. .....246
Кукумань Д. В.....85, 129
Кукуммань Д. В. .....180
Кулакова Ю. С. .....181, 184
Кулемзин С. В.....7
Куликов А. В.....106, 223
Куликов С. Н.....44
Куликова Е. А. .....8, 223, 287
Куприянов С. В.....182
Куприянова А. К.....183
Курасова Д. А.....184
Курников А. А.....82
Курова Д. А. .....328
Курченко О. М. .....185
Кустова А. А. .....186
Лаврик О. И.....34
Ладейнов Д. А. .....158
Ладейнова М. М.....187, 251
Лазарев С. Е. .....341
Лазаренко Е. В. .....188
Лазебник К. С.....142
Лазукин В. Ф.....302
Лайкова А. А. .....216
Лапин В. А.....125, 189, 210, 224
Лапшина К. К.....18
Ларина М. В. .....190, 274
Ласточкина Е. Э.....333
Латарцев К. В.....191
Латипова И. А. .....192
Лебедева А. В.....206, 324
Лебедева А. Н.....193
Левченко И. Н. .....194
Лейберова А. К. .....195
Лемба И. Н. .....196
Леонова В. С. .....175
Леонтьева А. А.....7
Лермонтова С. А. .....357
Литвяков Н. В. .....76, 102, 173, 345
Литти Ю. В.....216
Логинов В. В. .....228
Локтева А. В.....197
Лубенская А. К.....198
Лукашова Т. А.....199, 205
Лукина М. М. .....170
Луковникова Л. Б.....81
Лутфуллин М. Т.....334
Лутфуллина Г. Ф.....235
Любова Т. С.....357
Магазенкова Д. Н.....200, 271
Мажорина М. А.....70, 152
Макаренко Е. С. ..... 150
Макарова А. В. ..... 201
Макарова А. Е. .....344, 359
Макарова Е. М.....202
Макеев И. С. ..... 62
Маковкин С. Ю. .....158, 264
Максина Е. Е. ..... 203
Малыгина Е. В. .....31, 65, 141
Малыхина А. И. .....66, 204
Мальцева К. Е. .....206, 324
Малышакова М. В. ..... 75
Манакова Э. А. .....189, 210
Манухина Я. А. ..... 256
Марасанова Е. А. ..... 151
Марданова А. М. .....235, 338
Маркина М. В. ..... 205
Мартусевич А. К. .....43, 300, 323
Мартыненко Е. В. ..... 347
Масалимова М. Д. ..... 342
Масленникова А. В. .....171, 244, 245
Маслов М. А. ..... 372
Матвеева М. В. .....206, 324
Медведева Е. В. ..... 207
Медяник И. А. ..... 302
Меженина О. Ю. ..... 326
Межлумян Е. В. .....208, 227
Мезга А. С. .....209, 238
Мелентьев Д. А. .....125, 189, 210, 224
Мельник А. П. ..... 211
Мельник Б. С. .....70, 152
Мельник Т. Н. ..... 70
Мельникова Н. Б. ..... 299
Меньшикова А. Н. .....159, 162, 212
Микаелян А. С. ..... 231
Микина Н. В. ..... 213
Минаев Н. В. ..... 115
Мингажева Э. Т. ..... 343
Миргаязова Р. М. ..... 80
Миронов А. А. ..... 97
Миронова А. В. .....126, 214
Митрошина Е. В. .....151, 154, 374
Михайлова Е. Е. ..... 185
Михеев А. В. .....36, 313
Михеев В. С. ..... 215
Михеева Э. Р. ..... 216
Мишарина Е. А. .....65, 305
Мищенко Е. А. ..... 217
Мищенко Т. А. ..... 93
Можеров А. М. .....138, 170, 176, 272, 281, 290
Молодцова Д. С. ..... 293
Молоков А. Ю. ..... 218
Молчанов А. Д. .....55, 219
Мольков А. А. ..... 166
Молькова Е. А. ..... 220
Моргачева М. Д. ..... 332

Моргун Е. И. ....221
Моргунов И. С. ....222
Моргунова М. М. ....31, 305
Морозова О. В. ....60, 125
Москалев А. А. ....85, 129, 180, 253
Москалёв А. А. ....222
Москаленко В. А. ....157
Москалюк В. В. ....287
Москалюк В. С. ....223
Мохонова Е. В. ....125, 189, 210, 224
Мудрилов М. А. ....225
Мун В. В. ....226
Мустафин С. А. ....342
Мутовина А. С. ....227
Мухина И. В. ....119, 246
Мушаков Д. В. ....228
Мшенская Н. С. ....17, 161
Назаров В. В. ....300
Назаров И. Д. ....27
Наит Я. М. ....73
Наквасина М. А. ....347
Науменко В. С. ....89, 240, 279
Науменко К. Н. ....34
Наумочкина Е. В. ....348
Невская К. В. ....102
Недопекина Д. А. ....352
Недопёкина Д. А. ....213
Немтина П. И. ....229
Немцова М. В. ....219
Немцова Ю. А. ....6, 133, 230
Неретина А. Н. ....54
Нестерчук М. В. ....231
Неумоина Н. В. ....189, 224
Нефедова Д. А. ....232
Нефёдова Д. А. ....249, 259, 315
Нефедьева М. В. ....233
Нечаева И. А. ....327
Нешев Н. И. ....104
Никитенко В. Ю. ....234
Никитина А. В. ....332
Никитина Л. Е. ....167, 276
Никиточкина С. Ю. ....83
Николаев И. И. ....258
Николаева А. А. ....235, 260
Николаева Ю. М. ....236
Никонова Е. Э. ....286
Нифантьева Л. Н. ....328
Новикова А. Р. ....74, 363
Новикова Н. А. ....60, 239
Новикова Ю. А. ....83
Носкова О. С. ....292
Нургалиева А. Х. ....343
Нуштаева А. А. ....7, 345
Обухова Л. М. ....19, 302
Омельчук О. А. ....66
Онасенко К. А. ....209, 238
Онищенко В. В. ....178
Опарина С. В. ....239
Орешко А. С. ....240
Орлова А. Г. ....82
Остолоповская О. В. ....211
Остроумова О. С. ....66, 204
Отряскин Я. С. ....241
Очирова П. В. ....40
Павлов В. Н. ....134
Павлова Г. В. ....98, 351
Пак Т. С. ....242
Пакшина Н. Р. ....129
Палагина В. Г. ....140
Паллаева Т. Н. ....174, 243, 313
Панкратова Е. В. ....203
Пантелеев Д. Ю. ....351
Паньков Н. Н. ....110
Пахомов А. М. ....374
Пахомова А. А. ....244, 245
Пелевин К. А. ....246
Перенков А. Д. ....96, 154, 283, 316, 349
Перетягин П. В. ....247
Перетягин С. П. ....247
Перфилова К. М. ....189, 224
Першин В. И. ....95
Першина А. Г. ....76, 102
Першина В. Ю. ....248
Пескова Н. Н. ....45
Петров Д. С. ....249, 259, 315
Петрова С. Г. ....342
Печерина А. А. ....314
Печёрина А. А. ....100, 127, 187, 250
Пимашкин А. С. ....95
Пиняев С. И. ....241
Пирогова П. А. ....251
Писарева Е. В. ....160, 196
Пискунова А. С. ....252
Пишенин И. А. ....256
Платонова Е. Ю. ....129, 253
Плескова С. Н. ....28
Плескова С.Н. ....188
Плотников А. А. ....209, 238
Плотникова В. Д. ....254
Подлуцкий М. С. ....71, 150, 255, 256
Подобед М. Ю. ....150, 255, 256, 331
Позднякова М. А. ....348
Полев Д. Е. ....278
Половинкина А. А. ....257
Полозова А. В. ....112
Полякова А. Г. ....99
Полякова Л. В. ....312
Полянина А. В. ....13
Попова А. Ю. ....4
Попова О. В. ....258
Попова П. А. ....249, 315
Попова П. П. ....259
Попова Т. М. ....260
Поспелов А. Д. ....78, 156

Постнов Д. И. ....270
Потапов А. Л. ....339
Празян А. А. ....38, 150, 256, 331
Прокин А. М. ....261
Прокофьева Д. С. ....342
Прохоренко Н. Б. ....11
Прохорова М. А. ....262
Прудковский А. А. ....64
Пряжникова М. И. ....263
Психа Б. Л. ....104
Пучков П. А. ....372
Пушкарев Д. С. ....264
Пушкарева Е. И. ....30
Радченко Н. С. ....265
Раззоренова Е. А. ....181, 184, 266
Разин В. В. ....267
Ракова Ю. В. ....161
Расова Е. Е. ....268
Ратницына Д. А. ....269
Рахимов Р. Р. ....134
Ревищин А. В. ....351
Ревкова М. А. ....175
Ревухин А. А. ....270
Рекина В. Е. ....271
Репина Е. А. ....258
Решетников В. В. ....227
Ризванов А. А. ....143, 353
Римская Б. А. ....24
Рихтер В. А. ....7
Родимова С. А. ....176, 272
Родионова Д. А. ....175
Родный А. Я. ....240
Рожина Э. В. ....146
Романова Е. Б. ....254, 275, 298
Рудакова Н. Л. ....333
Рулева А. Ю. ....31
Рыбак А. В. ....268, 273
Рыбин Д. А. ....147, 274
Рыбкин А. В. ....157
Рябинина Е. С. ....254, 275
Рябова Н. В. ....295
Сабанцев М. О. ....276
Сабирова Л. М. ....260
Савельева О. Н. ....22, 277
Савин Д. М. ....40
Сагитова А. В. ....343
Садовская А. И. ....288
Сажина М. М. ....53
Сазыкин И. С. ....209, 238
Саитова А. Т. ....278
Сайфутдинов М. С. ....40
Сакаева Д. Д. ....342, 343
Салафутдинов И. И. ....86
Самарина С. А. ....279
Санникова А. В. ....280
Саттаров Р. Ф. ....342
Сачкова Д. А. ....53, 281
Сашина Т. А. .... 60
Светлова М. В. .... 114
Сгибнева Н. В. ....20, 61
Севостьянова А. А. .... 33
Семенова А. А. .... 213
Сенча Л. М. ....108, 282
Сергеева А. Д. ....283, 349
Сергеева Т. О. .... 284
Сергеенко О. М. .... 40
Сизова Е. А. .... 362
Силаев М. В. .... 285
Симакин А. В. .... 48
Симонова О. Б. .... 121
Синдеева О. А. .... 317
Синицына Ю. В. .... 161
Синюшкина С. Д. .... 286
Сироткина М. А. .... 339
Скамницкий Д. В. .... 293
Скотникова А. К. ....8, 287
Скотникова К. Е. ....113, 288
Скрипка М. И. .... 301
Смелова А. Д. .... 289
Смирнов В. Ф. ....26, 360
Смирнов Л. А. .... 157
Смирнов Р. О. .... 157
Смирнова К. В. .... 55
Смирнова С. А. .... 290
Советский А. А. .... 339
Соколов А. А. ....78, 156
Соколов Р. Д. .... 291
Соколова Е. М. .... 104
Соколова М. С. .... 292
Соколова Н. Р. .... 175
Соловьева А. Г. ....99, 247
Соловьева В. В. ....143, 353
Солопина Д. А. .... 288
Сорокин И. Е. .... 106
Сороко С. С. .... 293
Соснина А. С. .... 294
Спивак А. Ю. ....213, 352
Спирина В. Ю. .... 295
Старцева Н. А. ....199, 205
Стасенко С. В. .... 296
Стельникова И. Г. ....20, 61
Степанов Г. А. .... 297
Столярова И. А. .... 298
Стрельцова О. С. .... 46
Стручкова И. В. ....215, 350
Субочев П. В. .... 82
Сулейманова А. Р. ....244, 299
Сурнина Е. Н. .... 242
Суровегина А. В. ....300, 323
Сутягина О. И. .... 83
Сухов В. С. ....4, 131, 269
Сухов Д. А. .... 301
Сухова Е. М. ....4, 131, 269
Сырова В. В. ....344, 359

Сысоева М. А. ....328
Тавлеева М. М. ....268
Талаев В. Ю. ....114
Таламанова М. Н. ....105, 186
Тарасов С. С. ....303
Тарасова Д. А. ....304
Тасаева Е. С. ....328
Тевяшова А. Н. ....66
Тельнова Т. Ю. ....305
Теренина М. С. ....306
Теунов Е. Е. ....307
Тимофеева А. В. ....308
Тимофеева А. М. ....355
Тимофеева О. А. ....11
Титов В. В. ....309
Титов И. А. ....233
Ткаченко В. Д. ....310
Толордава Э. Р. ....174
Толстых А. А. ....328
Тоневицкий Е. А. ....178
Тощаков С. В. ....139
Травникова Д. Ю. ....311
Тризна Е. Ю. ....123, 126, 167, 211, 214, 276, 322
Трофимова Е. А. ....312
Трофимова С. В. ....183, 364
Трушина Д. Б. ....36, 47, 50, 78, 313, 330
Трушина Н. А. ....314
Тужилкин А. Н. ....323
Туктарова З. В. ....249, 259, 315
Тулупова Т. В. ....96, 316
Тулякова К. А. ....27, 317
Турмухаметова Н. В. ....88
Турчин И. В. ....82
Тчанг Э. М. ....196
Тюлькевич К. В. ....367
Тюрин Ю. А. ....44
Тютрина А. И. ....159, 318
Удалова В. М. ....319
Уланова П. В. ....175
Уляшева Н. С. ....129
Усачёв К. С. ....369
Устинова У. С. ....320
Уткин Я. А. ....321
Фаб Л. В. ....98
Фаисханова Р. Р. ....343
Федорова М. С. ....322
Федорова Ю. Ю. ....342, 343
Федотова А. С. ....323
Федулина А. А. ....206, 324
Фиайос Барриону́эво К. М. ....16, 326
Филин И. Ю. ....143
Филиппова А. С. ....327
Филяева Н. И. ....317
Хабибрахманова Р. В. ....328
Хадиева А. Р. ....329
Хадиуллина Р. Р. ....80
Хазипов Р. Н. ....306
Хайдуков Е. В. ....174, 243
Хакимова А. Г. ....328
Халашевская Д. Д. ....330
Халитова Р. Р. ....213
Ханова А. С. ....331
Харина Е. И. ....332
Харина О. К. ....343
Харисова Ж. Р. ....291
Хасанов Д. И. ....333
Хасанова К. А. ....334
Хворова С. А. ....235
Хлесткина Е. К. ....180
Хлынова А. Э. ....337
Ходанович М. Ю. ....252
Холиков С. И. ....338
Хорошавина Е. И. ....137
Хоченков Д. А. ....82
Хоченкова Ю. А. ....82
Храмушина И. А. ....339
Храмцова Ю. С. ....195
Хрипкова В. В. ....195
Худякова А. Ю. ....340
Хужахметова А. Ш. ....341
Хуснутдинова Э. К. ....22, 134, 277, 342, 343
Цвелая В. А. ....24
Цветкова Д. Ю. ....344
Цыбко А. С. ....279
Цыганова М. И. ....125, 189, 210
Цыденова И. А. ....76, 102, 173, 345
Чан Тху Чанг ....346
Часов В. В. ....80
Чаусов Д. Н. ....48
Чеканина О. М. ....312
Черезов Р. О. ....121
Черкасова Е. И. ....171, 282
Черневский Д. К. ....175
Чернов Я. В. ....95
Черных А. А. ....268
Черных Ю. А. ....347
Чикаев А. Н. ....191
Чугунова В. В. ....348
Чурина Т. С. ....266
Чуркина Е. С. ....349
Чуркина Л. М. ....350
Шабалин М. А. ....132, 249, 259, 315
Шавшаева Н. А. ....128
Шагимарданова Е. И. ....123
Шаймарданова А. А. ....353
Шакиров Е. В. ....280
Шамадыкова Д. В. ....351
Шапошников М. В. ....85, 129, 180, 253
Шарапов В. А. ....352
Шарипова М. Р. ....280, 333
Шаронов Г. В. ....138
Шаршакова А. ....353
Шаталова А. О. ....354
Шашкина С. С. ....305

Шаяхметова Л. Ш. ....355
Шелег С. А. ....221
Шелковникова В. Н. ....31, 141
Шелухина И. В. ....301
Шепилова В. А. ....356
Шерстнева О. Н. ....6
Шестакова Л. Н. ....47, 75, 357
Шестерикова Е. М ....71
Шестерикова Е. М. ....150, 255
Шеферов И. А. ....299
Шехурдина С. В. ....216
Шибаев М. И. ....117
Шибаева А. С. ....358
Шигапова Р. Р. ....308
Шилина Д. М. ....359
Шилягина Н. Ю. ....27, 47, 75, 293, 317, 357
Ширманова М. В. ....138, 170, 281, 286, 290
Широких А. А. ....130
Широков Я. Л. ....360
Широкова О. М. ....95, 119
Шишкин А. Ю. ....360
Шишкина К. А. ....360
Шмакова Д. Е. ....361
Шошин Д. Е. ....362
Шульникова А. А. ....363
Шумилова А. М. ....364
Шурганова Г. В. ....166, 270
Щелчкова Н. А. ....95, 246
Щербатюк Т. Г. ....312
Щербина С. А. ....24, 365
Щеславский В. И. ....170
Щечкин И. Д. ....164, 272, 286, 366
Щукин Д. Г. ....243
Щукина А. В. ....367
Щуров С. В. ....153
Юдина Л. М. .... 4
Южакова Д. В. ....53, 138, 281
Юсеф Али .... 353
Юсипов И. И. ....96, 368
Юсупов В. И. .... 115
Юсупова А. Ф. .... 369
Юферова А. К. .... 370
Ядерец В. В. .... 358
Ядыкова Л. Л. .... 371
Якимов В. Н. ....42, 144, 163, 178
Яковлев О. А. .... 372
Яковлева А. С. ....86, 373
Яковлева М. А. ....116, 177, 248
Яруллина Д. Р. ....73, 192
Яруллина Л. Э. .... 374
Ярцев В. В. .... 207
Ястребов П. В. .... 132
Яшин К. С. ....53, 170, 281
Chiriac A. .... 336
Chshukina A. V. .... 12
Dominova I. N. .... 336
Elohor-Oghene Amarie .... 12
Feiyan X. .... 325
Kabachkova A. V. .... 325
Khedairia T. .... 335
Krasnova O. .... 56
Neganova I. .... 56
Okhapkin A. G. .... 335
Omotosho O. S. .... 237
Sopova J. .... 56
Tulkevich C. V. .... 12
Vasilyeva G. .... 56
Zhuk A. .... 56
Zhukov V. V. .... 336