

77-я Международная
школа-конференция
молодых учёных

БИОСИСТЕМЫ

ОРГАНИЗАЦИЯ,
ПОВЕДЕНИЕ,
УПРАВЛЕНИЕ

ТЕЗИСЫ
ДОКЛАДОВ

15 - 19 апреля 2024 г.
Нижний Новгород



2024



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

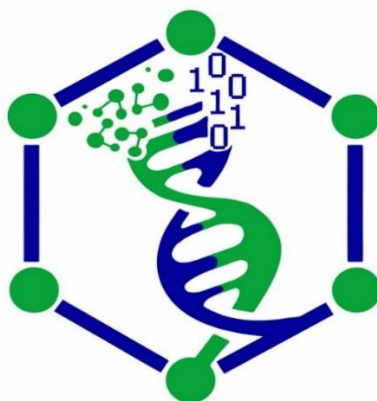
Институт биологии и биомедицины



«БИОСИСТЕМЫ: организация, поведение, управление»

77-я Международная школа-конференция молодых ученых

*Тезисы докладов
(Нижний Новгород, 15–19 апреля 2024 г.)*



Нижний Новгород
2024

УДК 573.6(063); 61:004(063)

ББК Е.с21я431
Б 63

Б 63 Биосистемы: организация, поведение, управление: Тезисы докладов 77-й Международной школы-конференции молодых ученых (Н. Новгород, 15–19 апреля 2024 г.). Н. Новгород, Университет Лобачевского. 2024. 423 с.

Тезисы докладов 77-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: 978-5-91326-882-2
ББК Е.с21я431
УДК 573.6(063); 61:004(063)

© Нижегородский госуниверситет
им. Н.И. Лобачевского, 2024

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

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

Брилкина А.А. (к.б.н., доц.), Воденеев В.А. (д.б.н., доц.), Горохова А.А., Дерюгина А.В. (д.б.н., доц.), Зрянин В.А. (к.б.н.), Карпушин М.Ю., Копылова О.Л., Сороко С.С., Таламанова М.Н. (к.б.н.), Тюрина М.Г., Чуева А.В., Щурова А.В.

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

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

И.В. Балалаева (к.б.н., доц., ННГУ), А.А. Брилкина (к.б.н., доц., ННГУ), Воденева Е.Л. (к.б.н., доц., ННГУ), С.Ю. Гордлеева (д.ф.-м.н., доц., ННГУ), С.В. Гудков (д.б.н., доц., ИОФ РАН), А.В. Дерюгина (д.б.н., доц., ННГУ), В.А. Зрянин (к.б.н., ННГУ), И.П. Иванова (д.б.н., доц., ННГУ), В.Б. Казанцев (д.ф.-м.н., доц., ННГУ), Г.А. Кравченко (к.б.н., ННГУ), Б.С. Мельник (д.ф.-м.н., ИБ РАН), В.В. Новиков (д.б.н., проф., ННГУ), А.Г. Охалкин (д.б.н., проф., ННГУ), Е.Б. Романова (д.б.н., проф., ННГУ), Ю.В. Сеницына (к.б.н., ННГУ), С.Н. Цыбусов (д.м.н., проф., ННГУ), Н.Ю. Шилягина (к.б.н., доц., ННГУ), В.Н. Якимов (д.б.н., доц., ННГУ), С.М. Деев (д.б.н., проф., ИБХ РАН), В.В. Демидчик (д.б.н., чл.-корр. НАН Беларуси, БГУ), А.В. Звягин (д.ф.-м.н., ПМГМУ), Д.В. Крысько (РНД, Гентский ун-т, Бельгия), М.А. Сироткина (к.б.н., ПИМУ), К. Франчески (проф., Болонский ун-т, Италия), А.А. Москалёв (д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, ИЦ УрО РАН), М.Г. Насиров (Самаркандский ун-т, Узбекистан)

ПОДБОР СОДЕРЖАНИЯ ФИТОГОРМОНОВ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО ОРГАНОГЕНЕЗА ЛИСТОВЫХ ЭКСПЛАНТОВ ГОЛУБИКИ И КЛЮКВЫ

*К. А. Абашева**, *М. Н. Агеева*, *А. А. Брилкина*

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ksyu.abasheva.02@mail.ru

Голубика щитковая (*Vaccinium corymbosum* L.) и клюква крупноплодная (*Vaccinium macrocarpon* (Ait.) Pers.) является одним из наиболее важных видов многолетних ягодных культур рода *Vaccinium*. Наиболее эффективным методом быстрого и эффективного увеличения количества здоровых побегов в течение всего года является размножение растительных культур *in vitro* посредством микроклонального размножения и органогенеза. Органогенез, индуцированный высоким отношением цитокининов к ауксинам в питательной среде, даёт большее количество побегов и является одним из путей регенерации. Целью данной работы является разработка надёжной системы регенерации для голубики щитковой и клюквы крупноплодной.

В качестве объектов исследования использовались растения голубики щитковой *Vaccinium corymbosum* L. культивара 53 и сорта Джерси и клюквы крупноплодной *Vaccinium macrocarpon* (Ait.) Pers. сорта Стивенс, культивируемые *in vitro* на питательной среде Woody Plant Medium (WPM) и Андерсона соответственно. Для инициации побегового органогенеза использовали листовые экспланты. Посадку эксплантов проводили абаксиальной стороной на застывшую питательную среду с добавлением фитогормонов. В качестве фитогормонов были выбраны цитокинины зеатин, 2-изопентениладенин (2-ИП) и тидиазурон (ТДЗ), а также ауксин α -нафталинуксусная кислота (НУК). Для эксплантов голубики использовались две схемы. В первом случае концентрация цитокининов составляла 25 мкМ, ауксинов – 1,1 мкМ. Во втором фитогормональный состав был следующим: ТДЗ (12,5 мкМ) /НУК (0,5 мкМ); 2-ИП (12,5 мкМ) /НУК (0,5 мкМ); ТДЗ (6,25 мкМ) + 2-ИП (6,25 мкМ) /НУК (1 мкМ); ТДЗ (6,25 мкМ) + 2-ИП (6,25 мкМ) /НУК (0,5 мкМ). Для клюквы цитокинины использовали в концентрациях 10 мкМ или 5 мкМ, ауксины – 1,1 мкМ.

Было выявлено, что листовые экспланты голубики щитковой культивара 53 при комбинированном действии цитокининов 2-ИП и ТДЗ с концентрацией 6,25 мкМ в сочетании с ауксином НУК в концентрации 0,5 мкМ быстро образовывали каллусы с большим количеством адвентивных почек. При действии среды WPM, дополненной цитокининами в концентрации 25 мкМ и НУК в концентрации 1,1 мкМ на голубику щитковую обоих сортов приводило к образованию каллусов либо без адвентивных почек, либо их количество было незначительным. Для клюквы крупноплодной сорта Стивенс наиболее эффективными в образовании каллусов оказались среды Андерсона с добавлением ТДЗ (10 мкМ) и зеатина (10 мкМ) в сочетании с НУК. Однако, появление адвентивных почек не наблюдалось.

Таким образом, для эффективной индукции образования побегов из листовых эксплантов культивара 53 целесообразно использовать питательную среду WPM и добавлять по 6,25 мкМ цитокининов 2-ИП и ТДЗ и 1 мкМ ауксина НУК.

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

АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ ВЛИЯТЬ НА ПАРАМЕТРЫ ФОТОСИНТЕЗА У ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩЕННОЙ НА ОТКРЫТОМ ВОЗДУХЕ В УСЛОВИЯХ ПОЛИВА И ЗАСУХИ

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

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

karinarutter@yandex.ru

Различные локальные воздействия могут приводить к генерации и распространению электрических сигналов (ЭС), способных влиять на фотосинтетические показатели растений. Известно, что деполяризационные электрические сигналы являются наиболее ранними, быстрыми стрессовыми сигналами. Для генерации потенциала действия (ПД) необходимы условия длительного покоя, а переменный потенциал (ВП) возникает в ответ на действие повреждающего фактора. Такие условия не характерны для открытого грунта. Кроме того, в естественных условиях растения подвержены одновременному действию нескольких стрессоров, которые могут дополнять действие друг друга. Поэтому в работе мы исследовали комбинацию неповреждающих факторов – нагрева и освещения, которые могут встречаться в естественных условиях. Такая стимуляция может приводить к генерации гиперполяризационных сигналов, которые слабо изучены. Целью нашей работы стало изучение влияния электрических сигналов на фотосинтетические параметры пшеницы при орошении и засухе.

Исследование проводилось на яровой пшенице (*Triticum aestivum* L.), которая выращивалась на открытом воздухе и при естественном освещении. Для контрольных растений производился систематический полив, они были защищены от неконтролируемого полива, а для создания условий засухи орошение прекращалось. Для локального воздействия использовали синий свет и умеренное повышение температуры. Для измерения ЭС с поверхности растения использовали хлорсеребряные макроэлектроды и усилитель биопотенциалов. Изменение параметров фотосинтеза проводилось с использованием РАМ-флуориметра Open FluorCam FC 800-О/1010.

Было выявлено, что у молодых растений, выращенных на открытом воздухе, чаще возникали деполяризационные сигналы, а у более взрослых – гиперполяризационные. В условиях почвенной засухи гиперполяризация не была зафиксирована. Кроме того, у орошаемых растений в возрасте 23-24 дней локальное воздействие вызвало снижение $\Delta\Pi$ и небольшое увеличение $\Delta N P Q$. Данные подтверждают, что изменения активности фотосинтетических параметров вызваны именно гиперполяризацией. В условиях умеренной засухи (6-7 дней) наблюдалось снижение $\Delta\Pi$ на расстоянии 5 и 7 см от стимулированной зоны листа и возрастание $\Delta N P Q$ на расстояниях 5, 7 и 9 см. В условиях полива ЭС не вызывали ответов фотосинтеза, вероятно засуха влияет на порог ответа фотосинтеза на ЭС, а также его локализацию.

Более глубокий анализ влияния ЭС на фотосинтетические параметры в условиях выращивания растений на открытом воздухе имеет большую значимость, а некоторые вопросы остаются спорными, поэтому данная тема требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 21-74-10088.

ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А КАК ПРЕДИКТОРЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ К ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХЕ

Ф. Ф. Абдуллаев, Д. М. Чурикова, Д. С. Куор, О. Н. Шерстнева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
abdullaev.aab@mail.ru

Внедрение оптического фенотипирования в лабораторный этап отбора генотипов является перспективным направлением развития подходов к оптимизации селекционного процесса. Одним из методов высокопроизводительного фенотипирования является флуоресцентный имиджинг – высокоинформативная техника по определению основных показателей фотосинтеза, основанная на регистрации флуоресценции хлорофилла а в импульсномодулированном режиме (РАМ).

Целью исследования стал анализ предсказательной способности параметров флуоресценции хлорофилла а в отношении устойчивости к засухе проростков пшеницы в более позднем возрасте.

Объектами исследования являлись проростки пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) 20 сортов, которые выращивались в условиях вегетационной комнаты (температура 24°C, относительная влажность воздуха 50%, режим освещения свет/темнота 16/8 ч). В возрасте двух недель у исследуемых растений производилась регистрация параметров флуоресценции хлорофилла а с использованием систем РАМ-имиджинга (Open FluorCam FC 800-O/1010-S, Photon Systems Instruments, Чехия и Plant Explorer Pro+, Phenovation B.V., Нидерланды). Далее растения были разделены на две группы. Растения опытной группы подвергались почвенной засухе путём прекращения полива; полив растений контрольной группы продолжался до конца эксперимента. Через 10 дней у исследуемых растений регистрировались параметры флуоресценции и производилась оценка сухого веса. Устойчивость к засухе оценивалась по индексу засухоустойчивости, определяемому по отношению сухого веса растений, подвергшихся засухе, к контрольным.

В результате корреляционного анализа были выявлены флуоресцентные параметры, способные выступать в качестве предикторов устойчивости проростков пшеницы к почвенной засухе. В частности, статистически значимую ($p < 0,05$) положительную корреляцию с индексом засухоустойчивости показали стационарные параметры: максимальная квантовая эффективность фотосистемы II, квантовый выход фотохимии фотосистемы II и скорость линейного транспорта электронов в светоадаптированном состоянии. Также была обнаружена положительная корреляция засухоустойчивости с показателем, характеризующим светоиндуцированные изменения активности фотосинтеза – квантовым выходом фотосистемы II через 30 с после включения актиничного света.

Данные результаты показывают перспективность применения параметров флуоресценции хлорофилла а для прогнозирования засухоустойчивости проростков пшеницы. Производимый на раннем этапе развития растений отбор перспективных вариантов на основе данных оптического фенотипирования обладает высоким потенциалом для оптимизации селекционного процесса за счёт сокращения количества вариантов, направляемых на последующие стадии отбора.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00212.

ОСОБЕННОСТИ ПАРАМЕТРОВ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА У ЛИЦ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19 В ПОКОЕ И ПРИ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ

К. А. Абдуллина

Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1;
salkun.kyz@yandex.ru

COVID-19 – это респираторное заболевание, но у двух третей госпитализированных пациентов фиксируются неврологические осложнения. Так целью исследования является оценка спектра абсолютной амплитуды ЭЭГ у лиц, перенесших COVID-19 и не прошедших госпитализацию. Обследовано 15 испытуемых, перенесших COVID-19, контрольную группу составили 20 испытуемых, не болевших COVID-19. ЭЭГ регистрировали по 21 отведению, эпоха анализа составляла 20 секунд, электроды располагались по схеме 10-20%. Для стимуляции обонятельной системы использовали эфирные масла лаванды, гвоздики и камфоры. В качестве контрольного раздражителя использовали дистиллированную воду. Анализировали влияние на ЭЭГ таких факторов, как Группа, Полушарие, Область, и все их сочетания. Вычисления производились в программе SPSS Statistics 23.

Визуальный анализ ЭЭГ активности в группе переболевших не выявил грубых нарушений нейрофизиологической активности мозга. Признаков пароксизмальной, судорожной или очаговой патологии не обнаружено. Повышенная амплитуда наиболее низкочастотных θ -ритмов в группе переболевших говорит о высоком уровне активности подкорковых структур. В частности, у лиц, переболевших COVID-19, наблюдается повышенная амплитуда $\alpha 1$ -ритма, наиболее выраженная в теменно-затылочных отделах, а также повышенная амплитуда $\alpha 2$ -ритма. Некоторое внимание обращает на себя повышенная по сравнению с контролем амплитуда в диапазоне $\beta 1$ -ритма, что может указывать на несколько повышенный уровень функциональной активности коры головного мозга. Локализация изменений в правом полушарии дает основания рассматривать их как признак несколько повышенной непродуктивной эмоциональной напряженности.

Подобные изменения могут создавать предпосылки к развитию специфического синдрома высокой эмоциональный ответ в виде стресса и тревожности, однако статистически значимых различий в уровне тревоги и депрессии между исследуемыми группами не обнаружено.

При исследовании амплитудного спектра ЭЭГ для переболевших COVID-19 по сравнению с контролем характерна сниженная амплитуда Δ -ритма, сниженная амплитуда $\beta 1$, рост амплитуды в диапазоне $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -ритмов с ярко выраженным акцентом в правом полушарии, а также увеличение амплитуды в β -диапазоне в теменно-затылочной области. Данные изменения могут указывать на увеличение неспецифической функциональной активности коры головного мозга.

Легкая форма COVID-19 не приводит к появлению признаков патологической активности ЦНС. Признаки нейродегенерации отсутствуют. Наблюдается лишь некоторый рост уровня неспецифической активности коры головного мозга, что может создавать предпосылки к развитию специфических нейропсихологических нарушений. Кроме того, для переболевших характерна избыточная активация функций внешнего внимания в ответ на действие обонятельных раздражителей.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА GDNF В УСЛОВИЯХ ДЕПРИВАЦИИ СНА У МЫШЕЙ

Д. А. Авласенко, М. О. Клименко, У. А. Кононова, М. В. Ведунова, Т. А. Мищенко

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Dasha091121@yandex.ru

Депривация сна нарушает циркадные ритмы и оказывает негативное влияние на мозг, ухудшает клеточный метаболизм белков нейротоксинов и нарушает поведенческие функции. Поэтому крайне важным является поиск эффективной терапевтической стратегии коррекции последствий бессонницы. В настоящее время особую актуальность приобретают исследования возможности применения нейротрофического фактора GDNF в качестве эффективного нейропротектора при развитии различных патологий ЦНС. Нейротрофический фактор GDNF играет ключевую роль в развитии, дифференцировке, синаптогенезе, выживании нейронов головного мозга и в процессах их адаптации к внешним воздействиям.

Цель работы – исследовать влияние нейротрофического фактора GDNF в условиях депривации сна *in vivo*.

В исследовании использовались половозрелые самки линии C57BL/6. В начале эксперимента была проведена оценка общей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в тесте «открытое поле». Далее было проведено обучение животных в водном лабиринте Морриса в течение 5 дней. На следующий день после последнего сеанса обучения мыши подвергались моделированию депривации сна по методике М. Жуве с коллегами для модуляции депривации REM-стадии сна. Животные были разделены на следующие группы: интактные – не подвергались депривации сна ($n = 10$), контроль – подвергались депривации сна без введения веществ ($n = 10$), SD PBS – мыши, которые в период моделирования депривации сна ежедневно получали однократные интраназальные инъекции натрий-фосфатный буфера ($n = 10$), SD GDNF – мыши, которые в период моделирования депривации сна ежедневно получали однократные интраназальные инъекции нейротрофического фактора GDNF (0,4 мкг/кг) ($n = 10$). Ежедневно у животных измерялись весовые характеристики и оценивался неврологический статус. Через 10 дней после начала воздействия депривации сна животные повторно тестировались в установке открытое поле, а также проходили отсроченное тестирование в водном лабиринте Морриса. На следующий день у животных извлекали головной мозг для дальнейшей оценки функциональной активности митохондриального аппарата нервных клеток и морфологического анализа ткани головного мозга.

В ходе работы было проанализировано влияние нейротрофического фактора GDNF на весовые характеристики, на изменение неврологического статуса, на общую двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность, на формирование пространственной памяти при моделировании депривации сна. Оценены различия в митохондриальной функциональности и гистологические отличия мозга мышей группы SD GDNF от других групп.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (код проекта FSWR-2023-0032).

ВЛИЯНИЕ ТИМОЛА НА АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ПОЧКАХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ

А. А. Агарков, Т. Н. Попова, Е. В. Мелихова, Я. А. Стоянова, Е. Е. Иванникова, Е. В.

Чегиль

Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1;
ekaterinamelikhova@yandex.ru

Известно, что гентамицин (ГМ) приводит к усиленной генерации молекул активных форм кислорода (АФК) и активного азота в почках, при этом активность антиоксидантной системы (АОС) снижается. Возникающий окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе гентамициновой нефропатии.

Одним из ключевых ферментов антиоксидантной системы (АОС) является супероксиддисмутаза (СОД), которая катализирует реакцию дисмутации супероксидных анион-радикалов, поддерживая их концентрацию в клетке на стационарном уровне.

Однако, в условиях окислительного стресса резервов АОС оказывается недостаточно. В связи с этим, актуальными представляются работы, направленные на поиск новых протекторных соединений, обладающих антиокислительной активностью.

В этой связи целью настоящего исследования стало изучение влияния тимола (2-изопропил-5-метилфенола), обладающего высокой антиоксидантной активностью, на активность СОД в почках и сыворотке крови крыс с гентамициновой нефропатией.

В качестве объекта исследования использовали самцов белых лабораторных крыс массой 200-250 г, содержащихся на стандартном режиме вивария. Для моделирования нефропатии крысам внутрибрюшинно раз в сутки в течение 8 дней вводился ГМ в дозе 100 мг/кг в 0,9% NaCl раз в сутки в течение 8 дней. На девятый день у экспериментальных животных забирали биоматериал для исследования.

Эксперимент был проведен на крысах, разделенных на три группы: 1-я – контрольная группа животных, содержащихся на стандартном режиме вивария; 2-я – животные с патологией; 3-я – животные, которым с первого дня моделирования ГН перорально вводился тимол, растворенный в диметилсульфоксиде, в дозе 50 мг/кг.

Активность СОД определяли по ингибированию скорости восстановления нитросинеготетразолия (НСТ) в неэнзиматической системе феназинметасульфата (ФМС) и НАДН. Реакцию запускали добавлением НАДН. Регистрировали прирост оптической плотности за 5 мин. при длине волны 540 нм. За единицу активности СОД принимали количество фермента, необходимого для 50%-ого ингибирования восстановления НСТ. Количество белка определяли с помощью биуретового метода.

Установлено, что при нефропатии, вызванной введением ГМ, происходит снижение удельной активности СОД в почках и сыворотке крови в 2,2 и 1,9 раза соответственно по сравнению с группой контрольных животных.

Введение тимола крысам с патологией приводило к изменению активности фермента в сторону контрольных значений. Так, активность СОД в почках и сыворотке крови животных третьей экспериментальной группы возрастала в 1,7 и 1,5 раза соответственно по сравнению с патологией.

Вероятно, тимол, реализуя свой антиоксидантный потенциал, мог обеспечивать снижение негативного воздействия АФК на молекулы белков, в том числе СОД.

ПОИСК И ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ *CRONOBACTER SAKAZAKII* ИЗ ЕСТЕСТВЕННЫХ ВОДОЕМОВ

З. А. Азнабаева, Г. И. Муталланова, М. С. Федорова, Е. Ю. Тризна, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
aznabaevazarina2005@gmail.com

На сегодняшний день особенно остро стоит проблема бактериальной антибиотикорезистентности. Биологическое давление, создаваемое неграмотным применением антибиотиков, способствует приобретению множественной лекарственной устойчивости у патогенных бактерий, которые представляют серьезную угрозу общественному здравоохранению. Известно, что клинические изоляты *C. sakazakii* демонстрируют резистентность к антибиотикам широкого спектра действия и способны вызывать заболевания желудочно-кишечного тракта, неонатальный менингит, сепсис, поэтому существует необходимость в поиске альтернативных методов терапии против этих бактерий. Перспективным подходом для решения данной проблемы является использование бактериофагов, как и отдельно, так в сочетании с антимикробными препаратами. Известно, что бактериофаги обитают в сточных водах, почве, естественных водоемах и т.д. В данном исследовании проводился поиск и выделение бактериофага, специфичного в отношении бактерий *C. sakazakii*. Для выделения бактериофага проводили выделение бактериофагов из проб воды из реки Кусюкла (Республика Башкортостан). Для оценки вирулентных свойств бактериофагов, проводили анализ на двуслойном агаре. В результате наблюдался значительный лизис на бактериальном газоне *C. sakazakii*, что говорит о высокой литической активности полученного фаголизата в отношении данной бактерии.

Таким образом, были получены бактериофаги, специфичные в отношении *C. sakazakii*. В дальнейшем планируется очистка, идентификация и характеристика бактериофага и оценка его штаммоспецифичности.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ НА БИОПЛЕНКИ, ОБРАЗУЕМЫЕ КАРИЕСОГЕННОЙ МИКРОФЛОРОЙ ПОЛОСТИ РТА

Л. М. Айзатуллина, С. В. Колышкина, А. П. Мельник, А. Р. Каюмов, Д. Р. Хуснутдинова
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
aizatullina14@mail.ru

Бактериальные биопленки – это ассоциированные с поверхностью полимикробные сообщества, заключенные в матрикс, продуцируемый самими бактериями. Пример классической биопленки – зубной налет, который является причиной образования зубного камня и развития кариеса – одного из наиболее распространенных и многофакторных заболеваний. В образовании биопленки ротовой полости ключевую роль играют бактерии рода *Streptococcus sp.* Они являются первичными колонизаторами зубной поверхности, далее стрептококки обеспечивают связывание вторичных колонизаторов, постепенно формируя полноценную биопленку полости рта. Поэтому подавление образования и разрушение стрептококковой биопленки является перспективным подходом для профилактики кариеса.

Целью работы было установить возможность подавления образования и разрушения биопленок изолятов *Streptococcus sp.* протеолитическими ферментами.

На первом этапе исследования была собрана коллекция изолятов представителей рода *Streptococcus sp.* Для этого брали мазки из ротовой полости условно здоровых людей и рассеивали на кровяной агар. Клоны, вокруг которых наблюдалась зона гемолиза, рассеивали до единичных колоний. После чего отобранные клоны идентифицировали при помощи масс-спектрометрии. Исследование одобрено локальным этическим комитетом КФУ, протокол 39 от 22.12.2022.

На втором этапе работы проводили оценку влияния протеолитических ферментов – субтилизином, бациллолизином, папаином, фицином – на подавление образования и деструкцию биопленок *Streptococcus sp.* При исследовании подавления образования стрептококковых биопленок бактерии выращивали в 96-луночном планшете в течение 24 часов при 37°C в присутствии ферментов. Для оценки деструкции биопленок воздействовали гидролитическими ферментами на зрелые биопленки *Streptococcus sp.* При количественном анализе остаточной биопленки эффективность демонстрировали фицин, бациллолизин и в меньшей степени субтилизин и папаин. Также была проведена оценка влияния фицина на смешанные биопленки, полученные путем посева мазка с зубов условно здоровых доноров. Фермент приводит к значимой деструкции половины модельных биопленок *in vitro*.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.

ВЛИЯНИЕ ИСКУССТВЕННЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ ИЗ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА СПЕРМАТОЗОИДЫ КРЫС

А. Т. Аймалетдинова, А. М. Аймалетдинов, А. Г. Маланьева, Е. Ю. Закирова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
timur299@yandex.ru

Достижения в биотехнологии позволили проводить целенаправленную доставку диагностических и терапевтических микровезикул (МВ)/экзосом к отдельным тканям или типам клеток, тем самым способствуя развитию методов неинвазивной диагностики/терапии. МВ могут оказывать влияние не только на соматические клетки организма, но и на половые. На данный момент времени не изучена эффективность и безопасность применения МВ, выделенных из мезенхимных стволовых клеток (МСК) при помощи цитохолазина Б. Хотя известно, что такие искусственные МВ обладают схожими свойствами с естественными МВ и стимулируют регенерацию поврежденной ткани. При помощи цитохалазина. Нами были получены МВ из МСК крысы, которые были добавлены в образцы со спермой этих животных. Контрольные образцы оставались интактными. Инкубация с МВ приводит к увеличению выживаемости сперматозоидов крысы как при 240°C, так и при 370°C температурах инкубирования. Однако, выживаемость сперматозоидов крысы при 370°C выше как в контроле, так и в опыте по сравнению с образцами, инкубированными при 240°C. Для проведения всех остальных экспериментов образцы инкубировали при 370°C. Проведенные эксперименты по определению включения мембраны МВ в мембрану сперматозоидов показали возможность такого слияния, однако в большинстве случаев слияния не происходило и МВ располагались около сперматозоидов. Проточная цитометрия показала, что около 2% сперматозоидов в образцах несут на своей мембране вкрапления мембран МВ. Тест на генотоксичность показал, что МВ при их со-инкубации со сперматозоидами крыс не оказывают на них воздействия, повреждающего ДНК половых клеток. Анализ ПОЛ показал, что нарастание реактивных соединений тиобарбитуровой кислоты происходит в течение часа после начала эксперимента. Причем, накопление продуктов ПОЛ в опытной группе значительно ниже, чем в контрольной.

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что МВ оказывают протективный эффект на сперматозоиды крысы, увеличивая их выживаемость, снижая интенсивность ПОЛ и не имеют повреждающего воздействия на ДНК половых клеток.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00172 в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета («Приоритет-2030»).

К ФЛОРЕ СФАГНОВЫХ МХОВ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Д. К. Алексеева, А. А. Шестакова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alekseevadiana2101@yandex.ru

Сфагновые – ведущее семейство в большинстве бриофлор умеренной зоны, в т.ч. в Нижегородской области. Целью работы является выявление и анализ флоры сфагновых мхов (*Sphagnaceae*) на территории Нижегородской области.

На начальном этапе в ходе работы с гербарными фондами ННГУ (NNSU) были проанализированы 540 образца сфагнов, собранных на территории Нижегородской области. Анализ данных материалов показал, что из 30 видов семейства Сфагновые, указывающихся для бриофлоры Нижегородской области в гербарии не были представлены 3 – *Sphagnum jensenii* Н. Lindb., *S. quinquifarium* (Lindb. ex Braithw.) Warnst и *S. balticum* (Russow) С. Е. О. Jensen. В ходе дальнейшей работы по обработке и анализу как собственных сборов, так и неопределенных материалов, хранящихся в NNSU, собранных разными коллекторами в разные годы, коллекция сфагнов пополнилась и составляет 1019 образцов. Среди них были обнаружены сборы всех 5 видов, охраняемых на территории области, что существенно дополнило имеющуюся информацию по их распространению: *S. balticum* (8 образцов) указывается впервые для Сокольского, Воротынского, Павловского и Навашинского р-нов, а также для территории г. Нижнего Новгорода, *S. denticulatum* Bridel и *S. obtusum* Warnst. (по 1) – для м.о. Дзержинск, *S. papillosum* Lindb. (6) – для Воротынского и Навашинского р-нов; *S. inundatum* Russow и *S. quinquefarium* (по 2) – также для Воротынского р-на. Кроме того, *S. jensenii*, который ранее приводился только для территории Керженского заповедника и отсутствовал в NNSU, был выявлен в количестве 6 образцов в сборах из Семеновского, Воротынского, Володарского и Навашинского р-нов. По результатам проведенной работы рекомендован к включению в новое издание Красной книги Нижегородской области как вид, для которого охране подлежат ключевые местообитания (категория 3.3). Также в Приложение II к новому изданию Красной книги рекомендован *S. palustre* L., довольно редкий вид, охраняемый в ряде соседних регионов.

Анализ распространения Сфагновых на территории Нижегородской области показал довольно неравномерное распределение сборов. К районам с наибольшим числом собранных образцов относятся: Воротынский (19.3%), Володарский (7.8%) и Балахнинский (4.3%), что, в целом, совпадает с распространением болот в области. Не отмечено сборов сфагнов из 13 административных районов из южной и юго-восточной части области. Не совсем ясно, с чем это связано: с лесостепным положением районов и отсутствием местообитаний для данных видов или с недостаточной их изученностью.

Проведенная работа существенно дополнила данные по распространению сфагновых мхов на территории области, но в тоже время выявила существенные пробелы в изучении этой группы и необходимость проведения специализированных исследований.

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ДНКАЗЫ I И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ вДНК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Л. А. Алексеева

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090,
Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8;
alekseeva.mila.23@yandex.com

Внеклеточная циркулирующая ДНК (вДНК) представляет интерес в качестве жидкостной биопсии для ранней диагностики и прогноза течения различных заболеваний. Все чаще предлагаются варианты использования жидкостной биопсии для молекулярного профилирования рака. Кроме того, выдвигаются предположения о возможных патогенных эффектах избыточной вДНК. В норме клиренс вДНК осуществляется в том числе секреторными нуклеазами. Тем не менее, при патологических состояниях нормальное функционирование ДНКаз может нарушаться.

Нашей группой на нескольких мышиных моделях опухолей (карцинома легких LLC, меланома B16, лимфосаркома RLS40) показан антиметастатический потенциал бычьей ДНКазы I и человеческой рекомбинантной ДНКазы I. Также было показано, что снижение количества метастазов и сокращение размера опухоли коррелировало со снижением патологически повышенного уровня вДНК и повышения уровня ДНКазной активности крови.

В продолжении работы о механизме антиметастатического действия ДНКаз была поставлена цель – изучение биологических эффектов, которые оказывает вДНК на сами опухолевые клетки. При добавлении вДНК, выделенной из крови здоровых мышей или мышей с различными опухолями, мы не заметили изменений жизнеспособности клеток меланомы B16. Однако при изучении биологических эффектов вДНК из кондиционной среды клеток меланомы B16 мыши (cd-cfB16-вДНК) и фибробластов мыши L929 (cd-L929-вДНК), на клетки меланомы B16 *in vitro*, было обнаружено снижение жизнеспособности и миграционных свойств клеток B16 в присутствии cd-cfB16-вДНК в концентрациях 100-1000 нг/1 млн. кл. Обработка клеток ДНКазой I убирала эти эффекты и повышение инвазивных свойств в присутствии cd-L929-вДНК в той же концентрации. Для исследования влияния вДНК на клетки меланомы B16 *in vivo*, клетки B16 инкубировали с cd-cfB16-вДНК или cd-L929-вДНК в концентрации 100 нг/1 млн. кл. и вводили внутривенно или подкожно мышам линии C57Bl с метастатической моделью меланомы или моделью с опухолевым узлом, соответственно. Обработка клеток B16 cd-L929-вДНК усиливает рост опухолевого узла и повышает медианное количество метастазов в группе мышей с метастатической меланомой по сравнению с контрольной группой, тогда как предварительная обработка B16 с cd-cfB16-вДНК приводила к ослаблению основных параметров опухоли. В процессе исследования было показано, что cd-cfB16-вДНК характеризовалось повышенным количеством митохондриальной ДНК в составе и сниженным уровнем метилирования по сравнению с cd-L929-вДНК.

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что вДНК может быть важной терапевтической мишенью при разработке противоопухолевых препаратов, а ДНКазы могут рассматриваться в качестве важных противоопухолевых и антиметастатических агентов.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-14-00289.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ СПОСОБОВ ОБРАБОТКИ НА СОДЕРЖАНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ И ШИШКАХ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*HUMULUS LUPULUS* L.)

Д. Аль Хуссейн, Е. Алмуграби, А. А. Мостякова, О. А. Тимофеева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
dalal.matar91@gmail.com

Хмель обыкновенный (*Humulus lupulus* L.) – двудомное многолетнее вьющееся растение, относящееся к семейству *Cannabaceae*.

Хмель – ценное лекарственное растение, содержит много биологических активных соединений, обладающих мощной противомикробной, антиоксидантной и противогрибковой активностью, благодаря чему его первоначальное применение было в лечебных целях и только позже начали использовали в производстве пива.

Цель работы состояла в выявлении особенностей действия регуляторов роста (гибберсиб и эпин-экстра) и также биоудобрения (пудрет) на содержание белка, сахаров, в растениях *Humulus lupulus* L.

Посев корневищных черенков хмеля проводили в мае 2023 года в защищенном грунте в лабораторных условиях. Схема опыта включала 4 варианта: первый контроль, во втором варианте эксперимента корневищные черенки высаживали в горшки с почвой, в которую добавляли пудрет (био-удобрение из высушенного в СВЧ-лучах птичьего помета), в третьем варианте корневищные черенки хмеля обрабатывали гибберсибом путем опрыскивания, и в четвертом варианте обрабатывали эпин-экстра (также путем опрыскивания).

Через 4 недели все варианты пересаживали в открытый грунт. Пробы для анализа листья и шишки отбирали через 12, недель после посадки в открытом грунте. Средние ночные температуры были +14°C.

Содержание сахаров определяли антрономным методом. Содержание белка определяли по методу Lowry.

Наши результаты показали, что регуляторы роста повышали содержание сахаров в листьях, так и в шишках, особенно под влиянием гибберсибом, который увеличивал содержание сахаров на 31,9% в листьях хмеля и на 27,6% в шишках, а эпин-экстра повышал содержание показатель на 11,3% в шишках. Однако пудрет уменьшал содержание сахаров в листьях на 16,8% и также в шишках на 15,7%.

Пудрет и гибберсиб увеличили содержание белка в листьях и шишках, но эпин-экстра снижал его содержание в листьях и повышал его в шишках. Пудрет повышал содержание белка на 74,03% в шишках и на 12,9% в листьях, в то время как гибберсиб повышал содержание показатель на 64,11% в шишках и на 12,84% в листьях.

ОСОБЕННОСТИ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ НА ПРИМЕРЕ В-ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА И ЛИМФОМЫ МАРГИНАЛЬНОЙ ЗОНЫ СЕЛЕЗЕНКИ

М. С. Аникаева

Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1;
mariaanikaeva@mail.ru

На сегодняшний день существует необходимость повышения точности диагностики лимфопролиферативных заболеваний. Решением данной проблемы может стать поиск дополнительных маркеров, описывающих не только злокачественные клетки, но и структурно-функциональные изменения стромального микроокружения, которые, могут быть столь же информативными, как и сведения о цитофенотипе трансформированных лимфатических клеток. В последнее время все чаще сообщается, что гликозилирование клеточных белков коррелирует с метастатическим потенциалом различных опухолей, включая лимфомы. Изменения в гликозилировании клеток можно обнаружить с помощью растительных лектинов, например, лектина томата (*Lycopersicon esculentum*), маркера широкого спектра клеточных типов, который связывается с поверхностными гликопротеинами лимфоцитарных и стромальных клеток лимфатических узлов (ЛУ) и может служить универсальным маркером для клеток-участников лимфопролиферативной трансформации.

Целью данного исследования стало изучение особенностей гликозилирования белков в клетках ЛУ различных лимфом человека на примере В-хронического лимфолейкоза (В-ХЛЛ) и лимфомы маргинальной зоны селезенки (ЛМЗС).

Объектом исследования являлись надключичные и шейные лимфатические узлы больных В-хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ) (6 пациентов) и лимфомой маргинальной зоны селезенки (ЛМЗС) (6 пациентов). Ткани ЛУ окрашивались гистохимически с помощью меченого ЛТ и дополнительно окрашивались йодистым пропидием. Выбор этих заболеваний определялся принципиальными различиями в их патофизиологических механизмах – если В-ХЛЛ характеризуется клональной пролиферацией опухолевых клеток в красном мозге с последующим накоплением в периферической крови и лимфатических узлах, то для ЛМЗС свойственен злокачественный рост непосредственно в лимфоузлах.

В обоих случаях были обнаружены значительные изменения не только в интенсивности мечения лимфоцитов и макрофагов, но и в организации фолликулов ЛУ, системе кондуитов и структуре субкапсулярного синуса. Можно предположить, что строма и опухолевые клетки влияют друг на друга, стимулируя изменения, а потеря функциональной активности ЛУ связана не только с накоплением злокачественных клеток, но и с утратой нормальной фолликулярной структуры.

Существенное различие в связывании меченого ЛТ между В-ХЛЛ и ЛМЗС, а также отличие характера гликозилирования препаратов лимфом и контроля позволяет использовать данный способ в дифференциальной диагностике лимфопролиферативных заболеваний.

АНАЛИЗ ПАТТЕРНА ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *CHIP1* НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

*П. Е. Анисимова*¹, *А. Е. Филатьева*¹, *В. С. Тарабыкин*², *Е. В. Кондакова*¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
milokj@list.ru

²Институт клеточной биологии и нейробиологии Университетского медицинского комплекса Шарите, 10117, Берлин, Германия, ул. Шаритеплац, 1

Нарушения развития нервной системы являются наиболее распространенными врожденными пороками, встречающимися в первичном педиатрическом скрининге во всем мире. Идентификация генетических причин данных нарушений достигла огромного прогресса за последнее десятилетие: было найдено более 1500 генов, ассоциированных с такими патологиями, как умственная отсталость и аутизм. Для понимания механизмов возникновения пороков развития нервной системы важно описать паттерн экспрессии гена. Метод *in situ* гибридизации позволяет визуализировать экспрессию генов в разных зонах коры головного мозга с сохраненной морфологией образцов на разных стадиях эмбрионального развития. Это способствует пониманию роли этих генов в патологических процессах в последующих исследованиях. Было обнаружено несколько семей, в которых дети с нарушениями развития нервной системы являлись носителями гомозиготной мутации гена *Chip1*.

Целью исследования явилось изучение паттерна экспрессии гена *Chip1*, кодирующего убиквитин E3-лигазу.

Были подобраны праймеры для проведения ПЦР, которая использовалась в амплификации кДНК гена *Chip1*. Затем на матрице кДНК были получены пробы-зонды мРНК гена *Chip1*, меченные диоксигенин-связанными нуклеотидами. Для гибридизации *in situ* использовали эмбрионов мышей линии C57BL6 на 12, 15 и 18 день эмбрионального развития (стадии E12.5, E15.5, E18.5). Срезы мозга эмбрионов мыши толщиной 17 мкм фиксировали в 4% PFA и выполняли криопротекцию в последовательных сменах 15% и 30% сахарозы. Для специфического связывания проб-зондов и РНК на срезах выполняли инкубацию с добавлением гибридизационного буфера (65°C, 12 ч). Гибридную РНК подвергали иммуногистохимическому окрашиванию при помощи антител против диоксигенина, конъюгированных с щелочной фосфатазой (фермент для развития хромогенной реакции). Для колориметрического определения активности щелочной фосфатазы срезы инкубировали в субстрате BCIP (5-бром-4-хлор-3-индолил-фосфат) в сочетании с NBT (нитросиний тетразолий) до появления нерастворимого темно-синего осадка на срезах.

В результате, экспрессия гена *Chip1* была обнаружена на стадиях эмбрионального развития E12.5, E15.5 и E18.5 в интермедиальной, субвентрикулярной зонах и кортикальной пластинке. Полученные данные указывают на то, что *Chip1* экспрессируется как в нейрональных предшественниках, так и в зрелых нейронах на протяжении всего периода кортикогенеза. В дальнейшем планируется проанализировать цитоархитектуру коры головного мозга после инактивации гена *Chip1* методом *in utero* электропорации.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FSWR-2023-0029).

КОМБИНАЦИЯ ЛАКТОФЕРРИНОВЫХ ЧАСТИЦ И ИНГИБИТОРА КАРБОАНГИДРАЗЫ 2 ДЕМОНСТРИРУЕТ УСИЛЕНИЕ ЭФФЕКТА ИНГИБИРОВАНИЯ ПРОГРЕССИИ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ САРКОМЫ ЮИНГА

Д. А. Анискин, Н. П. Логинова, Е. А. Гостеева

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048,
Москва, ул. Трубецкая, 8;
aniskin_d_a@student.sechenov.ru

Ферменты карбоангидразы, регулирующие pH как внутри, так и снаружи клеток, играют одну из ключевых ролей в усилении агрессии опухолевых клеток, и особенно велик вклад карбоангидразы 2 для многих рецидивных форм онкопатологий и некоторых опухолей в целом.

Нами было выявлено, что карбоангидраза 2 обладает повышенной экспрессией в саркоме Юинга, являющейся агрессивной саркомой детей. Наши предыдущие эксперименты с ингибиторами карбоангидразы на клеточных линиях саркомы Юинга показали обнадеживающие результаты в подавлении роста опухоли путём усиления ферроптоза, в связи, с чем мы стали искать способ усиления действия ингибитора, для чего решили использовать его в комбинации с лактоферриновыми частицами в качестве транспортеров.

Цель нашего исследования заключалась в оценке влияния на клеточные линии саркомы Юинга и эмбриональных фибробластов комбинации ингибитора с лактоферриновыми частицами.

Материалы и методы:

В работе анализировались клеточные линии A673, ES36 (клеточные линии саркомы Юинга человека), а также клеточная линия M19 (эмбриональные фибробласты человека). В каждой линии было выделено 6 групп, а каждая группа на 5 подгрупп в зависимости от степени разведения терапевтических агентов, минимум 5 повторов в каждой подгруппе. После добавления к каждой группе вышеуказанных терапевтических агентов клетки оставляли инкубироваться в течении 72 часов, а затем анализировали выживаемость методом аламарового синего.

Константа ингибирования использованного нами ингибитора карбоангидразы 2 равна 0.74 нМ.

Концентрация исходного раствора частиц составляла 10 млмолей.

Результаты: Нами была подтверждена гипотеза о повышении эффективности ингибирования клеточного роста при использовании комбинации «лактоферриновые частицы-ингибитор карбоангидразы 2». Так, нами было выяснено, что частицы значительно усиливали цитотоксичное действие ингибитора на клеточные линии A673 и ES36 (до концентрации 10 мкмоль). При получении доксирубицин-резистентных клеток чувствительность таковых к ингибитору в присутствии лактоферриновых частиц увеличивалась на 40%, что свидетельствует о положительном влиянии добавленных частиц даже на устойчивые культуры.

Также было показано, что выживаемость клеток ES36, обработанных лактоферриновыми частицами с ингибитором в концентрации 10 мкмоль в 4 раза ниже, чем при аналогичном воздействии на M19.

Вывод: Мы продемонстрировали способ усиления действия ингибитора карбоангидразы 2 на клеточных линиях A673 и ES36. Необходимо дальнейшее изучение стратегии использования лактоферриновых частиц в качестве транспортёров в силу их низкой токсичности наряду с высокой эффективностью.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ Р. МАЛАЯ КОКШАГА НА СОДЕРЖАНИЕ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА В СОСТАВЕ ОЧИЩЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

Е. А. Анкудинова, Е. А. Скочилова

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
ankudinova.2001@list.ru

На очистные сооружения канализации г. Йошкар-Олы поступают сточные воды города и поселка Медведево республики Марий Эл. На предприятии происходит два этапа очистки сточных вод: механическая и биологическая. Целью исследования являлось изучение годовой динамики содержания соединений азота в составе очищенных сточных вод, сбрасываемых в р. Малая Кокшага. Для проведения сравнительного анализа были отобраны три вида проб: 500 м выше сброса, место сброса и 500 м ниже сброса. Отбор проб проводили согласно ГОСТ 31861-2012. Содержание нитратного, нитритного азота и аммонийного азота определяли фотометрическим методом согласно нормативным документам: ПНД Ф 14.1:2.1 – 95, ПНД Ф 14.1:2:4(3) – 95, ПНД Ф 14.1:2:4(4) – 95 на базе лаборатории сточных коммунальных отходов МУП «Водоканал».

Полученные данные сравнивали с предельно допустимыми концентрациями рыбохозяйственного значения. В ходе работы было выяснено, что в марте в пробах воды очищенной воды и 500 м ниже сброса обнаружены превышения ПДК ($0,5 \text{ мг/дм}^3$) в 1,64 и 2 раза соответственно. В сентябре данный показатель превышал норму во всех трех пробах. Наибольшее значение ($1,8 \text{ мг/дм}^3$) наблюдается в пробе воды 500 м ниже сброса, что превышает ПДК в 3,6 раза. Содержание иона аммония других проб в пределах нормы. Это может быть связано с увеличением температуры воды в реке. Снижение уровня растворимого кислорода приводит к деградации белковых веществ. Вследствие этих процессов аммонийный азот достигает своего пика в сентябре.

При исследовании нитритов самое большое значение наблюдается в сентябре во всех точках отбора. В пробах 500 м выше сброса и очищенной воде превышение в 2,9 раза, 500 м ниже сброса в 4,4 раза. В этот период активно происходит процесс окисления аммонийного азота. Также превышение ПДК обнаружено в декабре в очищенной воде в 1,4 раза и 500 м ниже сброса в 2 раза. Подъем может быть обусловлен некачественной очисткой сточной воды. Содержание нитрит аниона других проб в пределах нормы.

При изучении содержания нитратов было выявлено, что превышение ПДК наблюдается в очищенной воде в январе и в феврале в 1,1 раза. Содержание нитрат аниона других проб в пределах нормы.

Таким образом, наиболее часто наблюдаются превышения предельно допустимых концентраций по нитритам и аммонийно. Нитрит анионы неразрывно связаны с аммонийным азотом, поэтому они повторяют их динамику. Содержание нитратов находится в пределах нормы за исключением зимнего периода. Усиленный процесс разложения органических веществ при более медленном окислении оксидов азота свидетельствует о загрязненности водоема.

УРОВЕНЬ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ У КРЫС С ИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ВТОРОГО ТИПА И НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Е. О. Антипова, Е. Е. Акулова, Л. В. Матасова

Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1;
antieseniya@gmail.com

Сахарный диабет второго типа (СД2) – заболевание, характеризующееся хроническим высоким уровнем сахара в крови, развитием инсулинорезистентности и нарушениями секреции инсулина. В клинической практике СД2 часто сочетается с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП). Развитие СД2 и НАЖБП связано с протеканием свободнорадикальных процессов, в ходе которых происходит генерация активных форм кислорода, что приводит к окислительному стрессу и увеличению повреждения тканей. Окислительный стресс, индуцированный гипергликемией, рассматривается в качестве главного механизма, ускоряющего прогрессирование сахарного диабета. Важным звеном антиоксидантной защиты является глутатионпероксидаза (ГПО), обладающая высоким сродством к различным гидроперекисям.

Целью работы являлось изучение активности глутатионпероксидаз в сыворотке крови и печени крыс с СД2 и НАЖБП.

В качестве объекта исследования использовали самцов белых лабораторных крыс массой 250-300 г. Животные были разделены на две экспериментальные группы: в первую группу вошли здоровые животные, содержащиеся на стандартном режиме вивария ($n = 12$), вторую группу составили крысы с индуцированным СД2 и НАЖБП ($n = 12$). Патологии моделировались по методике, которая предполагала содержание животных на высокожировой и углеводной диете в течении 10 недель. Индукция патологий проводилась с помощью однократного введения 1% р-ра стрептозотоцина в дозе 35 мг/кг массы тела. После инъекции стрептозотоцина животных продолжали кормить пищей с высоким содержанием жиров и сахаров в течение еще 2 недель, что способствовало развитию НАЖБП, в соответствии с рассматриваемой моделью. Скорость глутатионпероксидазной реакции оценивали по уменьшению оптической плотности опытных образцов при 340 нм, происходящему в результате окисления НАДФН за счет протекания сопряженных ферментативных реакций: образования окисленного глутатиона под действием ГПО и его последующего восстановления, взаимосвязанного с окислением НАДФН в реакции, катализируемой данным ферментом.

В результате проведенных исследований было установлено, что на фоне развития СД2, сопряженного с развитием НАЖБП у крыс, происходило снижение активности ГПО в печени в 4,7 раза относительно показателей контрольной группы животных. Наблюдалось также снижение активности ГПО в сыворотке крови в 3,2 раза. Данное снижение активности происходит в результате значительного повреждения фермента активными формами кислорода. Также имеет место снижение общего количества ГПО вследствие дистрофии печени. Еще одним вероятным исходом событий при развитой гипергликемии могло быть гликозилирование фермента, снижающее его активность.

ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАНОСТИКИ КЛЕТОК КУЛЬТУР ГЛИОБЛАСТОМ ПАЦИЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ АПТАМЕРОВ К EGFR И CD133

О. М. Антипова¹, В. Л. Моисеенко¹, Б. М. Иванов¹, Ф. М. Дзариева², Н. С. Самойленкова³,
И. Н. Пронин³, Г. В. Павлова^{2,3}, А. М. Копылов^{1,3}

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

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 117485, Москва, ул. Бутлерова, 5А

³НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко, 125047, Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, 16

Глиобластома (ГБ) – неизлечимая гетерогенная опухоль головного мозга человека. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) – основной опухолевый маркер ГБ. Маркер CD133 представлен на клетках, обладающих потенциалом дифференцировки, маркер-кандидат стволовых клеток ГБ. Аптамеры – олигонуклеотиды, высокоаффинно связывающие мишень, «химические антитела». Разработка новых аффинных агентов к EGFR и CD133 – актуальная задача тераностики ГБ.

Целью настоящей работы была оценка использования анти-EGFR и анти-CD133 аптамеров для детекции маркеров и применения на клетках перевиваемых культур ГБ пациентов.

Методами проточной цитометрии и флуоресцентной микроскопии показано взаимодействие с линейными клетками и перевиваемыми культурами клеток ГБ пациентов аптамеров к EGFR: 2'-F-замещенные по пиримидин-нуклеотидам (2'FY-) РНК ME07 и CL4 и ДНК U2, U31, оригинальные авторские Go11 и GR20; аптамеров к CD133: 2'FY-РНК A15 и ДНК Ap1M и Ap2, Cs1 и Cs5. Аптамеры к EGFR и CD133 взаимодействуют с клетками перевиваемых культур опухоли ГБ пациентов: Sus, G01, 90, 107, 1558, 1793, 1800; при этом аптамеры к EGFR и CD133 взаимодействуют с клетками линий и перевиваемых культур из ГБ пациентов при наличии антигенов; культура клеток пациента Sus необычна и взаимодействует с олигонуклеотидами при отсутствии рецептора. Методом интерферометрии биослоев показана аффинность аптамеров к рекомбинантному внеклеточному домену EGFR, при оптимизации аптамеров до Go11/2 и GR20/31 наблюдается снижение константы диссоциации Kd комплекса аптамер-белок. В реальном времени измеряли жизнеспособность клеток после обработки оригинальной аптамерной нековалентной конструкцией с интеркалированным доксорубицином (ДОКСом) методом xCelligence. ДНК-конструкция аптамера GR20 изменяет кинетику и, возможно, механизм, доставки ДОКСа в клетки, что критически важно для применения аптамеров в качестве средств доставки противоопухолевых препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по соглашению 075-15-2021-1343 от 4 октября 2021г.

СОЗДАНИЕ МАТРИЦЫ ДЛЯ СИНТЕЗА РНК *IN VITRO* С КОНЦЕВЫМИ ШПИЛЕЧНЫМИ СТРУКТУРАМИ

Д. Д. Антонова, Т. В. Тулунова, А. Д. Перенков

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
add.nn@bk.ru

До начала XXI века одной из основных проблем в работе с РНК было использование конструкций, таких как КЭП и полиА-хвост. Данные структуры могут ограничивать процесс транскрипции, а исследования по их замене направлены на разработку более эффективных методов синтеза мРНК, регулирования её стабильности и снижение стоимости производства. Одним из таких вариантов является использование шпилек на концах РНК. Такие структуры способны защищать мРНК от деградации.

Целью работы явилось создание плазмидных векторов для синтеза РНК с концевыми шпилечными структурами.

Материалом для работы явилась ДНК конструкция, включающая в себя фрагменты IRES HRV и eGFP в составе плазмиды pUC57. Праймеры для синтеза концевых терминальных шпилек были сконструированы методом *in silico* с использованием программы RNAfold. Синтетические праймеры, формирующие шпильки, синтезированы коммерческой компанией (Biosset, Россия). В работе использовали точную ДНК полимеразу FastPfy Fly DNA Polymerase (TransStart, Китай).

Для разработки шпилечных структур принимались следующие критерии: количественное содержание G/C пар 70% и более; последовательность должна формировать единственную стабильную шпильку на одном конце, в том числе, структурно отличаться от второй шпильки; длина последовательности в диапазоне 20-30 пар оснований; низкая иммуногенность конструкции. Биоинформатическим методом были собраны конструкции, соответствующие требованиям и осуществлен их коммерческий синтез.

На первом этапе работы методом ПЦР был синтезирован фрагмент «IRES-eGFP», с двух концов которого располагаются шпильки. Результаты реакции оценивали методом электрофореза в агарозном геле. Гидролиз плазмидного вектора pUC57 и клонируемого фрагмента проводили двумя ферментами – Pst I и Xba I (SibEnzyme, Россия). Соединение концов линеализированной плазмиды и нужного фрагмента осуществляли T4 ДНК лигазой. Далее проводили химическую трансформацию *E. coli* DH5α плазмидой со встроенной конструкцией. Затем оценивали рост колоний на среде LB с ампициллином. Последний этап работы представлял собой отбор клонов *E. coli* DH5α, содержащих вставку «IRES-eGFP» с терминальными шпилечными структурами в составе pUC57. Для этого проводили амплификацию фрагмента методом ПЦР, наличие вставки оценивали по длине фрагмента при помощи гель-электрофореза относительно маркера размерности ДНК.

В ходе работы было получено 5 клонов *E. coli* DH5α, которые содержат плазмиду, кодирующую нуклеотидную последовательность с концевыми шпилечными структурами.

АНАЛИЗ УРОВНЯ МРНК CD16A И CD16B В КРОВИ БОЛЬНЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ РАЗНОГО ВОЗРАСТА И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА

Х. Ариуа¹, Л. Хамидани², О. А. Коровин³, Д. В. Новиков⁴, А. В. Алясова³, В. В. Новиков¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
khalil256@outlook.fr

²Университет Баджи Мохтар-Аннаба, 23000, Аннаба, Алжир

³Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

⁴Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Введение. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является зависимым от возраста и гормонального статуса заболеванием, сопровождается воспалением и увеличивает риск развития рака предстательной железы. Молекулы CD16A экспрессируются в основном на натуральных киллерах и макрофагах, CD16B – на нейтрофилах и играют важную роль в иммунном ответе.

Целью исследования явился анализ уровня мРНК CD16A и CD16B в крови больных ДГПЖ в сопоставлении с их возрастом, концентрацией тестостерона (ТС) и простатспецифического антигена (ПСА).

Материалы и методы. С помощью ОТ-ПЦР в реальном времени анализировали уровень мРНК CD16A (FCGR3A) и CD16B (FCGR3B) в периферической крови 37 больных ДГПЖ (Больница № 33 г. Нижнего Новгорода). Уровень ТС и ПСА определяли с помощью коммерческих иммуноферментных наборов (Алкор Био, С.-Петербург).

Результаты. У больных в возрасте до 60 лет уровень мРНК FCGR3A в сыворотке крови был в 3,0 раза ниже, чем в возрастной группе 61-70 лет и в 13,8 раз ниже, чем у лиц в возрасте 71-80 лет ($p < 0,05$). При этом, у больных возрастом 61-70 лет содержание мРНК FCGR3A было ниже в 4,5 раза, чем в старшей возрастной группе. Уровень мРНК FCGR3B с повышением возраста статистически значимо не менялся, но имел тенденцию к падению. У больных с концентрацией тестостерона в крови более 15 ммоль/л уровень мРНК FCGR3A был вдвое выше, чем у больных с концентрацией тестостерона до 15 ммоль/л. Уровень мРНК FCGR3B не менялся. Не выявлено также различий в уровне мРНК FCGR3A и FCGR3B в группах больных с содержанием в крови ПСА в концентрации до 4 нг/мл и выше.

Выводы: в крови больных ДГПЖ с возрастом и с увеличением концентрации тестостерона повышается уровень мРНК FCGR3A.

ROLE OF PHF10 ISOFORMS IN SPREADING AND MIGRATION OF MELANOMA A375 CELLS

H. Ashniev¹, A. Saidova^{1,2}, N. Soshnikova^{1,2}, A. Kovaleva^{1,2}

¹MSU named after M.V. Lomonosov, 119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1;
henry.ashniev@yandex.ru

²Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow,
Vaviliva str., 32

A specific subunit of PBAF chromatin remodeling complex is the PHF10; it plays a crucial role in transcriptional regulation. There are four isoforms of PHF10 in mammalian cells that are incorporated in the PBAF complex alternatively. Isoforms are expressed from one gene and proteins differ by N- and C-ends. PHF10-P isoforms contain DPF domains at C-end and bind histone modification; PHF10-S isoforms instead DPF contain PDSM motif for SUMO1 conjugation. Domain organization of PHF10 isoforms determines different cellular localization, stability and modification patterns.

According to transcriptome analysis, knockdown (KD) of PHF10 isoforms leads to changes in the expression of genes associated with cell adhesion and motility. We analyzed the role of PHF10 isoforms in spreading and migration of A375 melanoma cells with downregulated expression.

We performed KD of PHF10-P and PHF10-S isoforms in A375 cells using specific siRNAs and analyzed cell morphology and spreading rate from the beginning of cell attachment on the fibronectin-coated plate during 60 min. The spreading rate of cells with PHF10-S and PHF10-P KD was 1.5 times higher compared to control. A375 cells with KD PHF10-P also polarized faster than control cells and cells with KD PHF10-S.

Next, we analyzed the A375 cell migration parameters: migration speed, track length and total displacement. The total displacement was $40.11 \pm 3.12 \mu\text{m}$ for control A375 cells, $42.01 \pm 4.83 \mu\text{m}$ for cells with KD PHF10-P and $94.14 \pm 12.89 \mu\text{m}$ for cells with KD PHF10-S.

Thus, downregulation of the PHF10-P expression leads to increase in cell spreading rate and cell polarization, while downregulation of PHF10-S expression enables more directional movement. We assume that PBAF complexes containing PHF10-P and PHF10-S isoforms regulate adhesion and cell motility genes in different ways.

This study was supported by the Russian Science Foundation [grant number 21-14-00258 to N.S.].

ФОРМИРОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДНК-СЕТЕЙ ЛЕЙКОЦИТАРНЫМИ КЛЕТКАМИ ПЕЧЕНИ В ОТВЕТ НА ФИЗИЧЕСКИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

В. С. Асманкина, К. М. Файос Баррионуэво, И. П. Иванова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vasilinaasmankina@mail.ru

Формирование внеклеточных ДНК-сетей – это механизм, который основан на способности активированных клеток высвобождать экстрацеллюлярные ДНК-нити для связывания и уничтожения внеклеточных веществ. В настоящее время изучение этого процесса вызывает огромный интерес у ученых. Это связано с тем, что образование внеклеточных сетей ДНК может быть связано с развитием различных заболеваний, в том числе и рака.

Целью данной работы явилось изучение влияния ультрафиолетового излучения и излучения искрового разряда на формирование внеклеточных ДНК-сетей лейкоцитарными клетками печени.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить формирование внеклеточных ДНК-сетей лейкоцитарными клетками печени интактных животных и животных с модельной опухолью крыс RS-1 в ответ на облучение УФ лампой;

- изучить формирование внеклеточных ДНК-сетей лейкоцитарными клетками печени интактных животных и животных с модельной опухолью крыс RS-1 в ответ на облучение искровым разрядом ИР-50.

Материалом исследования служили взвеси лейкоцитарных клеток печени в концентрации 0,1 г/мл интактных крыс и крыс с модельной опухолью RS-1.

В ходе эксперимента взвеси клеток печени в концентрации 0,1 г/мл обрабатывали ультрафиолетовым излучением с помощью УФ-лампы и излучением газоразрядной плазмы с помощью устройства ПИЛИМИН ИР-50 в течение 30 и 60 минут. Готовили мазки и окрашивали их по Романовскому-Гимзе. На мазках анализировали 25-50 клеток.

В ходе работы было выявлено, что облучение взвеси клеток печени интактных животных и животных с RS-1 УФ лампой в течение 60 минут приводит к увеличению количества лейкоцитарных клеток, образовавших внеклеточные ДНК-сети на средней стадии. Также было установлено, что воздействие искровым разрядом ИР-50 в течение 30 и 60 минут на взвесь клеток печени животных с RS-1 также приводит к увеличению процента лейкоцитарных клеток, образовавших внеклеточные ДНК-сети, на средней стадии. Наблюдаемые эффекты могут быть связаны с тем, что данные физические воздействия приводят к накоплению активных форм кислорода, которые способствуют формированию клетками внеклеточных ДНК-сетей.

Воздействие ультрафиолетом в течение 30 минут оказало более сильное влияние на взвеси клеток печени интактных крыс: больше половины клеток образовали внеклеточные ДНК-сети. Облучение искровым разрядом, наоборот, оказало более сильное влияние на взвеси клеток печени животных с RS-1: после 30 минут облучения увеличилось количество клеток, сформировавших ДНК-нити на начальной стадии, а после 60 минут – на средней стадии.

GROWTH DYNAMICS OF CALLUS AND SUSPENSION CULTURES IN *SCROPHULARIA UMBROSA* DUMORT

A. N. Asomani

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
nasoant@yahoo.co.uk

Callus and suspension culturing techniques in plants are widely used to intensify the targeted synthesis of biologically active substances under *in vitro* conditions.

Fragments of leaves, stems and roots of *Scrophularia umbrosa* Dumort were used as explants to initiate callus induction. The explants were cultured on agar-solidified Murashige and Skoog culture medium (MS) containing only 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and in combination with 0.5 mg/l benzylaminopurine (BAP) or 0.5 mg/l thidiazuron (TDZ), to induce callogenesis. Subsequently, the media that best supported callus induction in all the explants of study were used to determine the dynamics of callus growth. The callus growing cycle consisted of 30 days. The explants were cultivated in a phytotron at a temperature of $26\pm 2^\circ\text{C}$, an illumination of 3000 lux and a 16-hour photoperiod. The resulting friable callus, with the best growth parameters, was subcultured on liquid MS media of the same composition and maintained by constant shaking. The biomass of suspension cultures, as well as the parameters and characteristics of growth, were determined weekly.

The studies on the induction of organ callogenesis in *S. umbrosa* culture showed that the presence of only 2,4-D in the nutrient medium and its combination with BAP or TDZ enhanced the induction and growth of callus. On MS media containing 0.5 mg/l or 1.0 mg/l BAP with 0.5 mg/l TDZ, 100% callus induction was observed for all types of explants used after 14 days of culturing. Callus induced from explants of root origin had a light brownish color and was characterized by a friable consistency. The highest growth rate was observed on MS medium supplemented with 0.5 mg/l BAP + 0.5 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l TDZ + 0.5 mg/l 2,4-D. The exponential phase in the growth cycle of *S. umbrosa* suspension cultures was recorded on days 22-42 of cultivation at 0.5 mg/l BAP + 0.5 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l TDZ + 0.5 mg/l 2,4-D.

Thus, the technique can be recommended for the cultivation of callus and suspension cultures of *S. umbrosa* for further determination of the maximum yield of secondary metabolic products.

Программа стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ 2030).

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*SALVIA OFFICINALIS* L.)

Ж. Н. Ахметова, Л. М. Айзатуллина, З. И. Исхакова, Г. Р. Аитова, А. С. Халиуллина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
janeakhmetova12@yandex.ru

Шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) имеет длительную историю эффективного медицинского применения в качестве лекарственного средства при воспалительных заболеваниях полости рта и глотки, гортани. В официальных медицинских источниках шалфей известен, прежде всего, своим противовоспалительным и противомикробным действием.

Целью работы является оценка антимикробного потенциала экстрактов, полученных из листьев шалфея лекарственного.

Были получены экстракты из 10 г растительного сырья шалфея лекарственного (*S. officinalis* L.) АО «Фармцвет» по двум технологическим схемам. Технология первого экстракта включала в себя двукратное экстрагирование в течение 30 мин методом рефлюкс-экстракции на водяной бане 95% этиловым спиртом при соотношении сырья и экстрагента 1:15. Второй экстракт был получен методом циркуляционного экстрагирования петролейным эфиром 40/70 в аппарате Сокслета при соотношении сырья и экстрагента 1:50, вакуум-упаривании экстракта при температуре 70°C и растворением густого экстракта в 95% этиловом спирте. Экстракты нормировали по содержанию дитерпеновых кислот в пересчёте на карназоловую кислоту (для первого экстракта – 4.25%±0.17% для второго – 4.3%±0.18% соответственно).

Антимикробную активность полученных экстрактов шалфея определяли методом двукратных микроразведений. Высокая активность была выявлена в отношении ряда грамм-положительных бактерий, однако в отношении грамм-отрицательных бактерий активность была низкой. Также показано повышение активности ряда антимикробных препаратов в присутствии сублетальных концентраций экстракта.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СТРУКТУРУ ЭПИДЕРМИСА И ПЛОЩАДЬ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

Е. А. Ашутова, В. М. Коцеева, Е. А. Кальясова, Н. С. Миенская

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ekaterina.ashutova@yandex.ru

Результаты исследований устойчивости растений к воздействию засухи свидетельствуют о том, что предварительная обработка магнитным полем может снижать повреждающие эффекты. Целью данного исследования было изучение длительного воздействия магнитного поля (МП) с частотой 14,3 Гц на морфологические показатели растений пшеницы в условиях засухи и без неё.

Объектом исследования являлась пшеница мягкая яровая (*Triticum aestivum* L.) сорта Злата. Семена опытной группы прорастивались и проходили дальнейшее развитие в переменном МП (14,3 Гц, 18 мкТл). Семена контрольной группы прорастали в аналогичных условиях вне воздействия МП. С 1 по 14 сутки эксперимента полив растений был регулярным, на 14 сутки полив части опытных и контрольных растений прекращали (моделирование засухи), начиная с 22 дня вегетации производили восстановление полива, на 30 сутки эксперимента проводили заключительное снятие результатов. В ходе эксперимента оценивали площадь листьев, количество устьиц и эпидермальных клеток, площадь и плотность устьиц (количество устьиц на единицу площади), а также устьичный индекс (отношение количества устьиц к общему количеству клеток).

На 14 сутки эксперимента магнитное поле снижало площадь устьиц по сравнению с контролем, на 22 сутки площадь устьиц во всех вариантах опыта увеличивалась относительно контроля, в дальнейшем на 30 сутки при воздействии магнитного поля или засухи возвращалась к контрольным значениям. При этом совместное действие засухи и МП приводило к увеличению площади устьиц относительно контрольного варианта, которое сохранялось и на 30 сутки выращивания растений. Количество устьиц и эпидермальных клеток под действием МП на 14 сутки вегетации не изменялось, на 22 сутки МП уменьшало количество устьиц и эпидермальных клеток относительно контроля, на 30 суток происходило увеличение количества устьиц у всех экспериментальных групп по сравнению с контролем. Изменение плотности устьиц у всех трёх опытных групп наблюдалось только на 30 сутки эксперимента – данный параметр увеличивался относительно контроля. Устьичный индекс изменялся только на 30 сутки воздействия МП. Наблюдалось уменьшение площади листьев по сравнению с контролем на 22 сутки под действием МП. МП совместно с засухой увеличивало площадь листьев по сравнению с группой, подвергшейся воздействию исключительно засухи.

Засуха вызывала развитие ксероморфности у растений пшеницы, заключавшееся в уменьшении площади листьев и увеличении плотности устьиц. Данные параметры после восстановления полива возвращались на контрольный уровень. Модифицирующее действие магнитного поля выражалось в частичном сохранении ксероморфных перестроек в листьях после восстановления полива, что позволяет предположить большую устойчивость растений к повторному периоду засухи в будущем.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ЭФАПТИЧЕСКОЙ СВЯЗИ КАРДИОМИОЦИТОВ В ФОРМИРОВАНИИ ОДНОНАПРАВЛЕННОГО БЛОКА ПРОВЕДЕНИЯ
С. С. Бакуменко¹, С. А. Романова^{1,2}, А. А. Аитова¹, В. Д. Наумов¹, И. С. Семидетнов¹, А. К. Бережной^{1,2}, М. М. Слотвицкий^{1,2}, В. А. Цвеляя^{1,2}, К. И. Агладзе^{1,2}

¹Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1А;
bakumenko.ss@phystech.edu

²Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2

Сердечная ткань существенно неоднородна по своей структуре, что существенно влияет на устойчивость проведения волны возбуждения. Важнейшим следствием гетерогенности сердечной ткани является возможное развитие функциональных блоков с последующим формированием спиральных волн-реентри. В большинстве случаев гомогенная модель сердечной ткани достаточна для исследования динамики и взаимодействия спиральных волн, поскольку характерный размер ядра реентри значительно превышает характерный размер межклеточных неоднородностей в сердечной ткани, которые могут быть представлены в виде межклеточных связей с различной проводимостью (щелевые контакты, GJ, и регионы с эфаптической связью, ЕрС). Однако механизм формирования первичных спиральных волн в сердечной ткани до сих пор не изучен и может не иметь полного объяснения в гомогенной модели. Влияние межклеточных неоднородностей на формирование первичных реентри может быть более значимым, чем влияние на динамику спиральных волн: критический радиус кривизны волнового фронта имеет размеры, сопоставимые с размерами межклеточных неоднородностей и, следовательно, такие неоднородности могут влиять на формирование однонаправленного блока, необходимого для возникновения реентри.

Целью данной работы является создание гетерогенной модели сердечной ткани для исследования влияния межклеточных неоднородностей на условия формирования первичных волн-реентри. В компьютерной модели распределение участков с различной проводимостью (GJ, ЕрС, непроводящие участки) было достигнуто при помощи клеточной модели Поттса, распределяющей неоднородности соответственно минимуму Гамильтониана системы. При помощи *in silico* экспериментов в данной модели был предложен механизм повышенной аритмогенности, связанный с подавлением эфаптической межклеточной связи (ЕрС). Реализация такой гипотезы через изменение свойств мембраны кардиомиоцитов может объяснить повышение аритмогенности без влияния на работу ионных каналов. Для проверки данного механизма была разработана экспериментальная система, включающая в себя протокол выделения человеческих сердечных клеток из биоптата предсердий (ушко предсердия), их дальнейшую культивацию и исследование свойств мембраны при совмещении флуоресцентной и атомно-силовой микроскопии после добавления исследуемых веществ. Было подтверждено изменение свойств мембраны для фотосенсибилизатора Азо-Таба, коррелирующее с повышенной вероятностью возникновения волн-реентри, обнаруженной в экспериментах по оптическому картированию волны возбуждения.

Исследование данного механизма позволит повысить эффективность доклинического тестирования лекарственных средств на кардиотоксичность, а также найти способы минимизации побочных эффектов, связанных с подавлением эфаптической межклеточной связи.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ ПУТИ БИОСИНТЕЗА ГЛИКОЛИПИДОВ И АНАЛИЗ ИХ ЭКСПРЕССИИ У ШТАММА РОДА *PSEUDOMONAS*

А. С. Баукова^{1,2}, Е. Э. Французова¹, А. А. Ветрова¹, И. Ю. Позднякова-Филатова¹, А. Г. Богун¹, Я. А. Делеган¹

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 5;
baukova_26@mail.ru

²Пушинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 3

Бактерии рода *Pseudomonas* обладают метаболической универсальностью и могут метаболизировать широкий спектр сложных органических поллютантов. Они являются активными продуцентами биосурфактантов, которые повышают биодоступность гидрофобных субстратов, за счет их амфипатической структуры. Это позволяет использовать микроорганизмов данной таксономической группы в мероприятиях по биоремедиации грунтовых и водных экосистем.

Целью работы является изучение генетической организации пути биосинтеза гликолипидов у *Pseudomonas sp.* VD9, а также определение вирулентности штамма.

Штамм *Pseudomonas sp.* VD9, выделенный из нефтезагрязнённого грунта Самотлорского нефтяного месторождения Нижневартовского района Ханты-Мансийского автономного округа, способен утилизировать декан, нафталин и дизельное топливо. В геноме штамма VD9 выявлены гены, которые могут быть вовлечены в продукцию вторичных метаболитов гликолипидной природы (предположительно, рамнолипидов): оперон *gmlBDAC*, который кодирует ферменты, участвующие в превращении глюкозо-1-фосфат в тимидиндифосфат-L-рамнозу, являющуюся предшественником рамнолипидов, и отдельный ген *wbbL*, кодирующий рамнозилтрансферазу *WbbL*. Для определения изменения количества мРНК целевых генов были разработаны специфические праймеры и проведена количественная ПЦР, дополненная реакцией обратной транскрипции. Во всех образцах обнаружена мРНК исследуемых генов, количество которой не изменялось в зависимости от условий культивирования клеток, где в качестве единственного источника углерода использовались декан и ацетат калия. На данный момент можно предполагать, что путь биосинтеза рамнозы в штамме активен вне зависимости от источника углерода, несмотря на то что ожидалось увидеть на декане повышенный уровень экспрессии рамнозного оперона и рамнозилтрансферазы *WbbL*, так как синтез рамнолипидов подразумевает наличие определенного субстрата.

Поскольку штамм *Pseudomonas sp.* VD9 предполагается использовать в мероприятиях по восстановлению загрязнённых грунтов в качестве деструктора углеводов алифатической и ароматической структуры, была изучена его вирулентность на беспородных белых мышах. Группе из 8 особей внутрибрюшинно вводили заражающую дозу (5×10^8 КОЕ/мышь суспензии суточной агаровой культуры). В течение 14 суток наблюдали за выживаемостью и клиническими проявлениями интоксикации с посуточной регистрацией летальности опытных животных, а также отслеживалась динамика изменения массы тела в течении 5 дней. Установлено, что штамм *Pseudomonas sp.* VD9 не вызывал гибели животных опытной группы, следовательно, не является патогенным.

ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДОМА ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ И ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

О. О. Безвугляк, Л. М. Обухова, К. С. Яшин

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
bezvugliak.oksana@mail.ru

Целью работы стал сравнительный анализ основных параметров липидома плазмы крови при опухолях головного мозга и атеросклерозе.

Материалы и методы. Исследовали плазму крови от 50 пациентов с опухолями головного мозга (25 мужчин, 32-74 лет и 25 женщин, 22-81 лет) и от 50 пациентов с атеросклерозом сосудов головного мозга (38 мужчин, 44-79 лет и 12 женщин, 55-77 года); от 50 пациентов с атеросклерозом сосудов головного мозга: 38 мужчин (44-79 лет) и 12 женщин (55-77 лет). В группе с опухолями головного мозга преобладали астроцитомы (50%) и глиобластомы (38%); также были представлены олигодендроглиомы (18%), эпендимомы (4%), менингиомы (4%), глиосаркомы (2%), и опухоли смешанного типа (8%), различной степени анаплазии: Grade I – 2%, Grade II – 8%, Grade III – 26%, Grade IV – 64%. Определяли содержание холестерина (набор реактивов «Холестерин-UTS», Россия), нейтральных липидов (набор активов «Триглицериды-UTS», Россия), ЛПНП, ЛПВП (набор реактивов HDLC3 HDLC4, Германия). После операции в опухолях головного мозга проводили иммуногистохимическое исследование маркера пролиферации клеток Ki-67 с использованием клонов антител Thermo Scientific, США.

Результаты. В плазме крови при опухолях головного мозга выявлен значимо более высокий уровень холестерина (на 63,43%, U-критерий Манна-Уитни = $4,78 \times 10^{-8}$), ЛПНП (на 58,70%, U-критерий = 0,0003), чем при атеросклерозе. Опухоли головного мозга содержат повышенное количество холестерина, поддерживающего их рост и пролиферацию. Это происходит за счет активации его синтеза, поглощения экзогенного холестерина посредством липопротеиновых рецепторов к ЛПНП. Однако при подсчете коэффициентов корреляции Спирмена для маркера Ki-67 и исследованными параметрами липидома крови при опухолях головного мозга значимых взаимосвязей обнаружено не было. В связи с чем был проведен расчет различных соотношений вышеуказанных параметров. Значимые отличия с значениями при атеросклерозе были выявлены для ТАГ/ЛПНП (U-критерий Манна-Уитни = 0,04) и холестерол/ЛПВП (U-критерий = 0,007). Достоверная корреляция с уровнем Ki-67 была выявлена для соотношения ТАГ/ЛПНП ($r = 0,485$). Клетки глиобластом накапливают липидные капли для удовлетворения своих потребностей в быстром росте. Липидные капли представляют собой субклеточные органеллы, которые хранят большое количество нейтральных липидов и/или эфиров холестерина. При прогрессии опухолевого роста проницаемость гематоэнцефалического опухолевого барьера возрастает, то приводит к увеличению уровня триглицеридов в крови.

Выводы. Полученные данные о специфических особенностях липидома плазмы крови могут быть использованы для ранней дооперационной диагностики опухолей головного.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы развития ПИМУ «Приоритет 2030» № 204.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS И ESCHERICHIA COLI ВЫЗЫВАЮТ УВЕЛИЧЕНИЕ РИГИДНОСТИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ БАКТЕРИЕМИИ***Н. А. Безруков¹, С. З. Бобык¹, С. Н. Плескова^{1,2}***¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*nick_bezrukov@mail.ru*²Нижегородский государственный технический университет им. Р. Е. Алексеева, 603155,
Нижний Новгород, ул. Минина, 24

Ригидность эндотелия человека тесно связана с функцией кровеносной системы, поскольку она регулирует высвобождение вазоактивных агентов (например, оксида азота) и активных форм кислорода. Мембрана эндотелия является уязвимой к внешнему воздействию, изменение ригидности способствует развитию эндотелиальной дисфункции и сосудистых патологий.

Целью данной работы было определение влияния грамположительных (*Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Escherichia coli*) бактерий на ригидность мембраны эндотелиальных клеток в модели септицемии методами сканирующей зондовой микроскопии.

Эндотелиальные клетки линии EA.hy926 культивировались (37°C, 5% CO₂) в полной среде DMEM/F12 с глутамином по общепринятой методике, дезинтеграция монослоя проводилась раз в 3–4 дня. Клетки в концентрации 1,25×10⁵ высаживались на чашки Петри с адгезионным покрытием (d = 35 мм) и культивировались 72 часа в аналогичных условиях для формирования монослоя. Бактериальные штаммы *S. aureus* 2879 М и *E. coli* 321 выращивались на плотном ГРМ-агаре (37°C, 18 ч), смывались и трижды отмывались физиологическим раствором (450g, 5 мин). Суспензии клеток доводились до оптической плотности 0.75 и 0.84 соответственно, что соответствовало концентрации 10⁹ кл/мл. Для одномоментного определения ригидности эндотелиоцитов использовался метод FS-спектроскопии, измерения осуществлялись на атомно-силовом микроскопе NTEGRA. Диапазон высоты зонда над поверхностью клетки составлял 100–5000 нм, сила нагрузки – 3–4 нН, время сближения-отведения – 2 с. Ригидность рассчитывали по силовым кривым с использованием модели Герца. Для моделирования септицемии в ту же чашку Петри вносилось 200 мкл бактериальной суспензии на 30 минут, после чего проводилось повторное измерение. Для динамического наблюдения за изменением ригидности мембран эндотелиоцитов использовали метод сканирующей ион-проводящей микроскопии (СИПМ) при значении потенциала 200 мВ. Ригидность клеток определяли по напряжению, оказываемому нанокapилляром с диаметром кончика до 100 нм на клетку, в диапазоне уменьшения ионного тока от 0,5% до 2%. В чашку Петри после снятия контрольных измерений вносили 200 мкл бактериальной суспензии и продолжали измерения в течение часа.

По результатам FS-спектроскопии значения модуля Юнга мембран эндотелиоцитов в ответ на бактериальную стимуляцию повышались на значения до 50%. Динамическое наблюдение методом СИПМ показало плавное повышение ригидности эндотелиоцитов в течение первых 30 минут с последующим выходом на плато. Таким образом при бактериемии прямой контакт эндотелия с патогенными бактериями вызывает увеличение его ригидности в течение первых 30 минут.

Работа выполнена при поддержке РФФ (номер проекта 22-14-20001).

ОСОБЕННОСТИ РИТМОВ ЭЭГ ПРИ ВОСПРИЯТИИ ОБРАЗОВ В ВИРТУАЛЬНОЙ РЕАЛЬНОСТИ

А. О. Белашевская

Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С. П. Королева, 443086,
Самара, ул. Московское шоссе, 34;
a.belashevskaya@mail.ru

Расширение использования виртуальной реальности (VR) в различных областях, включая медицину, образование, развлечения и тренировку, создает необходимость понимания влияния VR на мозговую активность. Исследование особенностей ритмов электроэнцефалограммы (ЭЭГ) при восприятии образов в VR поможет более глубоко понять этот вопрос.

Основываясь на исследованиях ритмов ЭЭГ в VR, можно разработать инновационные методики тренировки и реабилитации. VR может быть использована в реабилитационных процессах для восстановления функций мозга после травмы или для тренировки специфических навыков. Понимание особенностей ритмов ЭЭГ при восприятии образов в VR имеет потенциал для улучшения виртуальной реальности в качестве инструмента для образования.

Мы провели исследование особенностей ЭЭГ при восприятии эмоционально-напряженного контента, сопровождаемого зрительными и слуховыми эффектами разной продолжительности (2 минуты 38 секунд и 22 секунды) при помощи очков виртуальной реальности Oculus Meta Quest 2. В эксперименте принимали участие 40 здоровых добровольцев обоего пола в возрасте от 19 до 22 лет. Регистрировали ЭЭГ с помощью электроэнцефалографа «Нейровизор NVX 36 digital DC EEG» в соответствии с международной схемой «10-20» в условиях функционального покоя и при демонстрации контента VR.

Мы обнаружили усиление дельта-ритма в лобных (Fp1, Fp2, F7) и височных (T3, T4) отведениях при восприятии испытуемыми образов в виртуальной реальности с эффектом шокирующего контента (американские горки) в течение 2 минут 38 секунд.

При восприятии испытуемыми образов в виртуальной реальности с эффектом неожиданного контента отмечено усиление дельта-ритма в лобных (Fp1), и теменных (T6) отведениях.

Наибольшая корреляция дельта-ритма отмечалась между фронтальными и затылочными, фронтальными и теменными, фронтальными и височными отведениями.

ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

А. А. Белов^{1, 2}, О. Н. Ермохина², А. В. Дерюгина², М. Н. Иващенко^{1, 2}, А. И. Ерзутов¹

¹Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

kafedra2577@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Криоконсервация спермы быков усиливает выработку активных форм кислорода, нарушает целостность плазматической мембраны, подвижность и фертильность сперматозоидов. Результатом этого является снижение оплодотворяющей способности спермы животных. С целью предотвращения активации процессов свободнорадикального окисления в сперме, предлагается использовать в составе разбавителя спермы молекулярный водород. Молекулярный водород обладает мембраностабилизирующими, адаптагенными свойствами, является эффективным антиоксидантом.

Целью исследования явилось изучение влияния молекулярного водорода на антиоксидантную способность сперматозоидов крупного рогатого скота до и после криоконсервации.

Материалом для исследований служила спермопродукция черно-пестрых быков в возрасте 3 лет. Сперму разбавляли стерильной средой «BioXcell», разведенной на водородной воде. Концентрация молекулярного водорода находилась в пределах 1,2-1,5 мг/л.

Активность антиоксидантной системы в сперматозоидах изучали спектрофотометрическими методами по изменению активности ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Статистическую обработку полученных данных проводили в программе BIOSTAT.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что добавление молекулярного водорода в среду для разбавления спермы не изменяет антиоксидантную активность нативных сперматозоидов. После глубокой заморозки в половых клетках происходят разнонаправленные изменения активности СОД и каталазы. Активность СОД повысилась на 28%, активность каталазы снизилась на 6% относительно нативных клеток. После добавления молекулярного водорода в среду для криоконсервации отмечено значительное увеличение активности СОД и каталазы в сперматозоидах. Активность СОД и каталазы увеличилась на 42% и 74% соответственно относительно нативных клеток.

Таким образом, добавление молекулярного водорода в среду для разбавления спермы улучшает качество спермы, повышая антиокислительную активность сперматозоидов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта №23-26-00205.

ВЛИЯНИЕ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ НА СНЯТИЕ РАДИАЦИОННОЙ БЛОКИРОВКИ МИТОЗА, ПОТЕНЦИАЛ МИТОХОНДРИЙ И АПОПТОЗ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК HELA KYOTO

А. О. Белотелов¹, Е. И. Черкасова¹, А. В. Масленникова^{1,2}, В. И. Юсупов³

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
arteom.belotelow@yandex.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, пл. Минина и Пожарского, 10/1

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

При использовании фотобиомодуляции для защиты нормальных тканей, попадающих в объем облучения в процессе проведения (химио)лучевой терапии, его воздействие может происходить непосредственно в зоне расположения опухолевого очага. Однако такое терапевтическое воздействие может оказать влияние на опухолевые клетки, расположенные в зоне низкоинтенсивного светового воздействия, что может привести к стимуляции роста опухоли. В связи с этим возникает необходимость в изучении и анализе механизмов ответа опухолевых клеток, которые могут оказаться в зоне низкоинтенсивного светового воздействия параллельно с проведением лучевой терапии по поводу злокачественных новообразований.

Цель работы. Изучение влияния фотобиомодуляции с флюенсом 0.3 Дж/см² в сочетании с облучением ионизирующим излучением в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр на метаболическую активность митохондрий, клеточный цикл и пути клеточной гибели культуры опухолевых клеток HeLa Kyoto в зависимости от дозы ионизирующего излучения, а также последовательности воздействий ФБМ и ИИ.

В рамках эксперимента на клетки опухоли воздействовали фотобиомодуляцией с флюенсом 0.3 Дж/см², через час клетки облучались ИИ в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр (анализ адаптивного эффекта ФБМ). По другой методике, порядок воздействия ИИ и ФБМ менялся местами (анализ стимулирующего эффекта ФБМ). Через сутки, методами проточной цитометрии анализировалось влияние фотобиомодуляции в сочетании с облучением ИИ на клеточный цикл, пути клеточной гибели и митохондриальный потенциал опухолевых клеток. Определение фаз клеточного цикла проводили при помощи набора для определения фаз клеточного цикла (APC BrdU Flow Kit, кат. № 552598 Becton, Dickinson and Company, США). Для изучения изменений трансмембранного потенциала митохондрий использовали краситель MitoStatus TMRE (BD Pharmingen, США). Определение апоптоза в культуре клеток проводили при помощи набора (Annex v-PE apopt det kit, кат. № 559763, Becton, Dickinson and Company, США).

Результаты. В ходе исследования было выяснено, что воздействие ФБМ с флюенсом 300 мДж/см² после облучения ИИ в дозах 4 Гр и 6 Гр может способствовать частичному снятию радиационной блокировки опухолевых клеток, а также увеличивать количество клеток с сохраненным митохондриальным потенциалом, по сравнению с образцом, облучённым только ИИ.

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ВНЕСЕНИЯ ФС В КЛЕТОЧНУЮ СРЕДУ НА НАБЛЮДАЕМЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ

Н. Д. Белых¹, Я. И. Пылина², О. М. Старцева¹, Д. В. Белых³

¹Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, 167001, Сыктывкар, просп. Октябрьский, 55;

ixx228000@mail.ru

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

³Институт химии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48

Клеточные культуры представляют собой один из наиболее распространенных тест-объектов при исследовании темновой и фотоиндуцированной активности потенциальных ФС. Эффекты, возникающие при поступлении ФС в клетки, позволяют моделировать поведение вещества при введении в организм. Вместе с тем, клеточная культура сама по себе представляет собой сложную систему, взаимодействие которой с внесенным соединением зависит от многих факторов. В частности, наблюдаемый биологический эффект может существенно зависеть от способа введения соединения. Существует большое количество протоколов, реализуемых при изучении цитотоксических эффектов. Большой объем данных по собственной и фотоиндуцированной цитотоксичности хлориновых фотосенсибилизаторов получен согласно 2 протоколам, основными отличиями которых являются метод введения соединения и время воздействия вещества на культуру. В первом протоколе соединения вводились одновременно с клетками и воздействовали на культуру всё время инкубации (72 часа). Во втором протоколе соединения вводились через 24 часа после начала инкубации и воздействовали на культуру в течении 4 часов, а также, во время воздействия вещества в изучаемой системе отсутствовал бычий сывороточный альбумин (БСА). Целью настоящей работы является определение времени появления морфологических изменений клеток HeLa при фотоиндуцированном воздействии производных хлорофилла а на клетки линии HeLa в питательной среде содержащей (протокол 1) и не содержащей (протокол 2) БСА. Установлено, что в случае использования среды, содержащей БСА, фотоиндуцированные морфологические изменения наблюдались через 30 минут после окончания облучения. В тоже время значимые изменения в культурах клеток без БСА наблюдались только через 2 часа после облучения. Мы предполагаем, что различия в скорости проявления наблюдаемого биологического эффекта можно объяснить влиянием взаимодействия изучаемого соединения с БСА. При внесении одинаковых концентраций соединения, растворённого в ДМСО, в среду с БСА и без него, интенсивность люминесценции в среде с БСА была существенно больше, что может свидетельствовать о взаимодействии изученного соединения с белком.

ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ДИФОСФАТА БЕТУЛИНА НА ПРОТЕИНОГРАММЫ И СКОРОСТЬ ЗАЖИВЛЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

К. Л. Беляева¹, А. Г. Соловьева^{1, 2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

Skoln94@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Введение. Протеинограмма – биохимический анализ уровня белка и его фракций в сыворотке крови. На модели ожоговой раны на крысах показана перспективность использования дифосфата бетулина (ДФБ) как ранозаживляющего агента. Для исследования выбраны сроки 7, 14 и 21 суток течения ожоговой болезни, вызванной экспериментальной термической травмой II степени.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 самцах крыс линии Wistar массой 200-250 г. Животные были разделены на 3 равные по численности группы: 1 – интактные животные; 2 – контрольная; 3 – опытная. Животным контрольной и опытной групп моделировали экспериментальную термическую травму II площадью 20% поверхности тела. Животные 2 и 3 групп получали в/м инъекции цефазолина и в/б инъекции физраствора. На ожоговые раны животных опытной группы подшивались пленки бактериальной целлюлозы, содержащие дифосфат бетулина (БЦ-ДФБ), которые ежедневно смачивали раствором бензалкония хлорида 0,01%.

Кровь на исследования забиралась из подъязычной вены на 7, 14 и 21 сутки. Животных выводили из эксперимента на 21 сутки путем декапитации с перерезкой сонной артерии под наркозом. Протеинограммы получали на анализаторе АКБа-01-«БИОМ». Для оценки скорости заживления измерялась площадь термической травмы на все сроки исследования. Результаты статистически обработаны с использованием программы Statistica 13.5.0.17, достоверность различий между группами оценивали с использованием U-критерия Манна-Уитни ($p < 0,05$).

Результаты. На 7 сутки исследования получено снижение содержания альбумина в группе 2 на 15% ($p < 0,001$), повышение глобулинов α_2 на 17% ($p < 0,001$) и γ на 33% ($p < 0,001$) по сравнению с нормой, что свидетельствует о тяжести термической травмы. При этом в группе 3 установлено повышение уровня фракции глобулинов α_1 на 12% ($p < 0,01$) и γ на 22% ($p < 0,001$) по сравнению с нормой, при этом уровень α_1 был на 18% ($p = 0,023$) выше значения 2 группы, что позволяет предположить активацию процессов фибриллогенеза на 7 сутки в группе 3. На 14 сутки в группе контроля было установлено повышение глобулинов α_1 на 8% ($p = 0,004$), α_2 на 39% ($p < 0,001$) и γ на 17% ($p = 0,001$) по сравнению с нормой, что может свидетельствовать об активации фибриллогенеза и воспалительном процессе. На 21 сутки в группе 2 установлено повышение α_2 на 12% ($p < 0,001$) и γ на 11% ($p < 0,001$) по сравнению с нормой. При планиметрии раны установлено, что в группе применения БЦ-ДФБ на 14 сутки площадь ожога по сравнению с группой контроля оказалась меньше на 39% ($p = 0,014$), а на 21 сутки – на 54% ($p = 0,014$).

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об остром воспалительном процессе и иммунодефиците на фоне ожоговой болезни. Применение БЦ-ДФБ способствует активации заживления ожоговой раны, повышению активности иммунной системы.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ БЕЛКА SAM68 В РЕПАРАЦИИ ДНК И ЕГО ВЛИЯНИЯ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ PARP1

Е. А. Бережнев^{1,2}, К. Н. Науменко², О. И. Лаврик²

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

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

ДНК живых организмов хранит наследственную информацию, целостность которой может нарушаться при воздействии эндогенных и экзогенных повреждающих агентов. Системы репарации ДНК препятствуют накоплению повреждений и способствуют сохранению целостности генетической информации. Репарация ДНК – это сложный многостадийный процесс, нуждающийся в тонкой регуляции. На данный момент важнейшим регулятором процесса репарации ДНК считается поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP1). Активируясь на поврежденной ДНК, PARP1 катализирует синтез полимера АДФ-рибозы. Поли(АДФ-рибоза), ковалентно присоединенная к белкам-акцепторам, способствует их эффективной диссоциации с ДНК в месте повреждения. Синтез поли(АДФ-рибозы) в месте повреждения обеспечивает привлечение белков-участников процесса репарации. С использованием метода масс-спектрометрического анализа, было показано, что многие РНК-связывающие белки могут взаимодействовать с PARP1. Одним из потенциальных кандидатов на роль РНК-связывающего белка взаимодействующего с PARP1 и локализующегося в местах повреждения ДНК в условиях генотоксического стресса является Sam68. Установлено что Sam68 участвует в регуляции репарации ДНК, влияя на ферментативную активность PARP1. Sam68 может выступать акцептором в реакции поли(АДФ-рибозил)ирования, а так же способствует увеличению начальной скорости реакции. Однако детальный механизм взаимодействия Sam68 и PARP1 не установлен.

В лаборатории биоорганической химии ферментов активно исследуются белки способные влиять на каталитическую активность PARP1 и принимающие участия в регуляции репарации ДНК. В рамках работы по исследованию свойств белка Sam68 и его влияния на PARP1, был получен экспрессионный вектор, содержащий безинтронную последовательность Sam68, с использованием которого был наработан рекомбинантный белок Sam68 в клетках *E. coli* Rosetta(DE3)pLysS. Целевой белок был очищен хроматографией, с использованием смолы Ni-NTA. Для доказательства того, что выделенный белок является белком Sam68, был проведен масс-спектрометрический анализ. С использованием полученного белка был проведен ряд биохимических экспериментов. Было показано, что Sam68 может выступать мишенью в реакции поли(АДФ-рибозил)ирования. Присутствие Sam68 в реакционной смеси увеличивает начальную скорость и выход реакции поли(АДФ-рибозил)ирования. Так же была показана способность белка Sam68 связываться с поли(АДФ-рибозой) и ДНК.

Новосибирский Государственный университет, РНФ (грант № 22-74-10059).

ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ЭКЗОГЕННОГО НАФТАЛИНА В РАСТЕНИЯХ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) И ВЛИЯНИЯ НА ИХ РОСТ

П. А. Бизиков, Л. Е. Макарова, А. А. Ищенко

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 132;
bizikov.piotr@mail.ru

Нафталин – один из самых распространенных полициклических ароматических соединений, используемых в различных сферах жизни. Применение экзогенной обработки корней растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.) раствором нафталина позволило установить, что данное соединение в клетках этого растения может служить в качестве предшественника синтеза N-фенил-2-нафтиламина (N-ФНА) и фталатов. В настоящее время в научной литературе отсутствуют данные о путях синтеза N-ФНА и фталатов в растительных клетках и очень мало известно о их роли в физиолого-биохимических процессах у растений. Цель представляемых исследований – выяснение вероятных локусов биосинтеза N-ФНА и фталатов, а также выяснение возможности влияния нафталина на процессы роста и развития растений гороха (*Pisum sativum* L.). В работе использовали, в качестве исходного растительного материала, 2-суточные этиолированные проростки гороха сорта Торсдаг, на которые в течение 1 сут. воздействовали 10^{-4} М раствором нафталина. Контролем служили проростки, произраставшие на воде. По окончании экспозиций корни промывали дистиллированной водой и нарезали на участки: на расстоянии 0-2-7-20-25 мм от кончика корня и отделяли 5-мм отрезок гипокотыля (часть, прилегающая к семядолям). Из фиксированных 95%-ным этанолом отрезков корней последовательно при помощи 80% этанола и этилацетата получали экстракты, в которых методом ВЭЖХ определили содержание N-ФНА, диэтил-, дибутыл- и бис (2-этил-гексил) фталатов. Влияние же нафталина на рост и развитие растений гороха оценивали по показателям биомассы и фазы развития листового аппарата у растений, произраставших в нерегулируемой камере фитотрона при естественном освещении, экспонированных в течение суток на растворе нафталина по сравнению с растениями в контроле, росшим на воде. В этом варианте эксперимента семена с момента проклевывания корешков помещали на 1 сут. на раствор нафталина (контроль на воде), затем проростки высаживали в горшки с вермикулитом.

На основании биохимических исследований показано, что при воздействии нафталина на проростки гороха в их корнях активно осуществляется синтез N-ФНА и фталатов. При этом, наибольшее увеличение концентрации N-ФНА наблюдали в зоне меристемы и зоне роста растяжением корня. Изменения в содержании фталатов при действии нафталина вдоль корня аналогичны с изменениями в содержании N-ФНА: наиболее резкий подъем концентрации происходит в зоне меристемы и зоне роста растяжением. Результаты морфологических исследований показали, что последствием действия нафталина в период прорастания семян гороха являлось задерживание роста и развития растений гороха в течение 2-х недель, затем показатели роста и развития растений выравнивались с показателями растений контроля.

РЕАКЦИИ НЕЙРОНОВ ПОЯСНИЧНОГО УТОЛЩЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ГРУДНОГО ОТДЕЛА

А. Р. Билалова¹, И. М. Кабдеи¹, О. Н. Тутова^{1, 2}, А. В. Тимофеева¹, Я. О. Мухамедшина^{1, 2}, Ю. А. Чельшев²

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *bilalova.aizilya@yandex.ru*

²Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

Травма спинного мозга (ТСМ) характеризуется наличием патологических изменений в областях, находящихся далеко от первичной области повреждения. Ведутся исследования, направленные на выяснение клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе этих изменений, которые пока недостаточно изучены. Определение причин и механизмов этих изменений в поясничном отделе спинного мозга имеет особое значение для восстановления двигательной функции, особенно при повреждениях проксимальных отделов грудного или шейного отделов.

Крысам породы Wistar наносили контузионную ТСМ тяжелой (4 м/с) степени тяжести при помощи импактора Impact One (Leica) на уровне 8 грудного позвонка (Th8). На 7 и 60 сутки после повреждения область Th10 и область, соответствующая поясничному утолщению (L3-4), были аккуратно выделены из спинного мозга и зафиксированы в 4% забуференном формалине на ночь. Полученные с помощью криостата поперечные срезы спинного мозга использовали для анализа нейронов, экспрессирующих парвальбумин (Parv) и остеопонтин (OPN) в пластинке IX, расположенной в вентральных рогах в областях Th10 и L3-4. Также методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) был проведен количественный анализ мРНК генов нейрональных маркеров *Parv*, *OPN*, *SYP*, *PSD95* в сером веществе интактного и травмированного спинного мозга на уровне Th10 и L3-4 на 7 и 60 сутки после повреждения.

В поясничном отделе спинного мозга после контузионной травмы в грудном отделе крысы было выявлено увеличение экспрессии OPN в крупных нейронах и количества коэкспрессирующих Parv+/OPN+ интернейронов в пределах пластинки IX серого вещества. Методом ПЦР-РВ в сером веществе нами не были установлены достоверные различия по мРНК данных генов (*Parv*, *OPN*) при сравнении с интактным материалом в L3-4. Однако здесь же было показано достоверное уменьшение мРНК генов *SYP* и *PSD95* на 60 сутки после травмы.

Эти результаты позволяют более глубоко понять молекулярные и клеточные процессы, лежащие в основе патологических изменений в отдаленных участках спинного мозга при ТСМ, что поможет определить перспективные цели для терапии. Кроме того, полученные данные потенциально могут обосновать эффективность терапевтических воздействий не только на первичный очаг повреждения, но и на удаленные от него сегменты спинного мозга.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 23-25-00002.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ *CANDIDA ALBICANS*

*М. С. Бирин*¹, *К. Ю. Гузенко*¹, *А. А. Абидуллина*², *Н. И. Игнатова*²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
m.poluchowicz@yandex.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Одними из частых возбудителей оппортунистических инфекций кожи и слизистых являются штаммы *Candida albicans*. Высокая устойчивость к антифунгальным препаратам становится причиной хронизации заболеваний. Примерно 70-75% женщин хотя бы раз в жизни заболевают вульвовагинальным кандидозом (ВВК), притом у женщин в периоде менопаузы, бессимптомных носителей, здоровых женщин, а также женщин с острым ВВК, преобладающим видом является *C. albicans*. Особенно высокая частота обнаружения кандид отмечается в период беременности, при которой повышаются риски от применения антимикробных препаратов и появляется опасность возникновения осложнений для ребенка. В связи с этими причинами возрастает актуальность разработки альтернативных методов борьбы с данными возбудителями. Одним из таких способов может являться фотодинамическая инактивация (ФДИ).

ФДИ – метод, основанный на образовании активных форм кислорода при активации фотосенсибилизатора (ФС) лазерным излучением с длиной волны, соответствующей пику поглощения.

Цель работы – исследование эффективности ФДИ в отношении штаммов *C. albicans*.

Материалы и методы. Исследовались 6 штаммов *C. albicans* из коллекции кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ПИМУ. Свежая суточная культура, выращенная на питательном бульоне (37°C), была разведена по МакФарланду 0,5 (1,5·10⁸ КОЕ/мл) в фосфатно-солевом буфере. ФДИ проводилась по стандартной методике. В качестве ФС использовался Фотодитазин (ФД, 50 мкМ, 15 минут). В работе применялся диодный лазер с длиной волны 650 нм и выходной мощностью 150 мВт, в течение 10 минут. После облучения суспензии пересевались на чашки Петри для последующего подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ). Подсчёт КОЕ производился в программе ImageJ.

Результаты. В образцах, содержащих фосфатно-солевой буфер и ФД, и не подвергавшихся облучению, снижение КОЕ происходило в пределах погрешности. Отмечается полный фунгицидный эффект в пробах после облучения.

Выводы. В исследовании показано высокоэффективное фунгицидное действие ФДИ на штаммы *C. albicans*. В условиях растущей резистентности *C. albicans* к применяемым антимикотикам и в совокупности с отсутствием возможных негативных побочных действий от применения ФДИ, метод можно рассматривать как эффективную альтернативу антифунгальным препаратам для терапии хронических кандидозных инфекций.

К ВОПРОСУ ОЦЕНКИ УРОВНЯ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ СИРЕНИ В УСЛОВИЯХ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Д. В. Бирюков, Е. В. Думачева

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 308015,
Белгород, ул. Победы, 85;
shustrilla23@yandex.ru

Интерес к изучению сирени обусловлен ее высокой востребованностью в зеленом строительстве и рекреационной деятельности. Проект «Белгородская сирень» на базе НОЦ «Ботанический сад НИУ «БелГУ» реализуется с мая 2018 г. и в результате в Белгородской области создан один из крупнейших сиригариев в мире, включающий порядка 500 видов и сортов.

Наиболее распространенными и адаптированными сортами сирени по праву считают сорта выдающегося отечественного селекционера Л.А. Колесникова (1893-1968 гг.). В сиригарии НИУ «БелГУ» на сегодняшний день произрастает 50 сортов, представленных растениями разного возраста. Сорта высажены на участке с выщелоченным черноземом суглинистого типа. Разрабатываются методы оценки состояния растений не инвазивными методами по уровню азотного питания в условиях Белгородской области. С этой целью проводится листовая диагностика растений с использованием прибора Dualex. В соответствии с методикой по каждому сорту проводили измерения в период с 16.06 по 11.07 на 3 растениях, на каждом из которых на 10 листьях по соотношению содержания хлорофиллов и флавоноидов в автоматическом режиме рассчитывали индекс азотного баланса растений (NBI).

Все изученные сорта по уровню азотного статуса были разбиты на три группы:

1. Сорта с высокими значениями NBI (15,42-19,02): И.В. Мичурин, Память о Колесникове, Андрюша Громов, Зоя Космодемьянская, Гортензия, Маршал Василевский, Джавахарлал Неру, Сорок Лет Комсомола, Великая Победа, Галина Уланова, Байкал, Дочь Тамара, Знамя Ленина, Память о С.М. Кирове, Красавица Москвы.

2. Сорта со средними значениями NBI (13,22-15,27): Обманщица, Каприз, Пионер, Монумент жертвам фашизма, Советская Арктика, Надежда, Комсомолка, Небо Москвы, Надежда Крупская, Мечта, Емельян Ярославский, Сумерки, Колхозница, Изобилие, Утро Москвы, Алексей Маресьев, Красная Москва, Полина Осипенко, Защитникам Москвы, Леонид Леонов.

3. Сорта с низкими значениями NBI (10,47-12,69): М.И. Калинин, Невеста, Шолохов, Гастелло, Поль Робсон, Олимпиада Колесникова, Леонид Колесников, Джамбул, К.А. Тимирязев, Ветка Мира, Сеянец Колесникова 328, Память о Трипольской трагедии, Московский Университет, Маршал Жуков, Радж Капур.

Проведенное исследование позволило выявить диапазоны значений NBI, достижение которых позволяет получить наиболее обильное и массовое цветение у сирени.

Полученные результаты легли в основу рекомендаций по оптимизации минерального питания сортов. Необходимо учитывать, что подкормка растений должна проводиться в период после окончания цветения, когда растение активно развивается и происходит закладка цветочных почек.

ВЛИЯНИЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МИЦЕЛИИ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

Е. О. Блинова, Н. А. Аникина, В. Ф. Смирнов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
zelen.ekater@gmail.com

Один из способов защиты материалов от биоповреждений, вызываемых микроскопическими грибами – использование биоцидных препаратов. Интерес вызывают фотокаталитически активные частицы оксидов металлов, обладающие антимикробными свойствами. В связи с этим целесообразно было исследовать действие частиц на интенсивность перекисного окисления липидов как общепринятый показатель степени стрессового воздействия на биологические системы.

Цель работы – исследование влияния фотокаталитически активных субмикронных частиц оксида вольфрама и сложных оксидов RbTe1.5W0.5O6 и CsTeMoO6 на перекисное окисление липидов грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum* в условиях действия света и в темноте. Объекты исследования – *A. niger* van Tieghen ВКМФ-1119 и *P. chrysogenum* Thom ВКМ F-245 из Всероссийской коллекции микроорганизмов (Пушино). В качестве оксидов использовались WO_3 (х.ч.) и синтезированные в НИИ Химии ННГУ сложные оксиды RbTe1.5W0.5O6 и CsTeMoO6 , средний размер частиц ≈ 700 нм. Источник света – прожекторы JAZZWAY PFL-C3 мощностью 50 Вт (плотность потока излучения 524 Вт/м^2).

Навески мицелия грибов, выращенных на жидкой питательной среде Чапека-Докса, помещали в колбы с 50 мл свежей среды. Контрольная группа не подвергалась никакому воздействию, в опытные – добавлялись частицы оксида в концентрации 2 мг/мл (часть подвергалась воздействию света; другая – находилась в темноте). Культивировали грибы на шейкерах (150 об/мин) при температуре $27 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 7 суток.

Определение содержания диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов, малонового альдегида (МДА) в мицелии проводилось спектрофотометрически: при $\lambda = 232$ нм, 275 нм и 532 нм соответственно. Результаты измерений выражались в единицах оптической плотности в пересчете на мг общих липидов на 1 г мицелия.

Установлено, что содержание ДК и ТК снижалось в условиях воздействия света для всех исследуемых соединений, причем наиболее выражена данная закономерность для *P. chrysogenum*. Содержание МДА в случае *A. niger* при воздействии света уменьшалось при культивировании с WO_3 и RbTe1.5W0.5O6 , и возрастало с CsTeMoO6 ; для *P. chrysogenum* продемонстрирована обратная зависимость.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-2024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МОДУЛЕЙ ДЛЯ ФИЛЬТРАЦИИ ДАННЫХ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

П. Ю. Бобрик, В. Р. Вертёлко, И. Е. Гурьянова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, 223053, Боровляны, Беларусь, ул. Фрунзенская, 43;
bobrykpavel2001@gmail.com

С момента появления технологий секвенирования нового поколения (NGS) объем данных, получаемых в результате различных видов исследований, постоянно растет. Применение NGS платформ в клинической диагностике позволяет определять различные виды мутаций (SNP, INDEL, CNV и др.), однако наличие высокой частоты ошибок (~0,1-15%) заставляет проводить предварительную оценку полученных библиотек и их последующую обработку. Этот этап дает много полезной информации об общем качестве чтений, наличии адаптерных последовательностей, дубликатов и т.д. В настоящее время самой часто используемой программой для оценки качества необработанных данных секвенирования является FastQC. FastQC поддерживает экспорт отчёта о результатах работы в формате HTML. Для анализа представленных в отчёте графиков и таблиц необходимо непосредственное участие исследователя, который будет выбирать параметры для последующей фильтрации данных. Необходимость прерывания работы пайплайна, в который включен этап оценки качества, и последующая ручная фильтрация в значительной степени ограничивают возможности автоматизации процесса обработки. Поэтому поиск программ, способных самостоятельно выполнять данные задачи, бесспорно важен.

Цель исследования – изучить возможности имеющихся в свободном доступе программ, позволяющих автоматизировать процесс оценки качества и последующей фильтрации.

Материалы и методы: программные решения, предназначенные для проверки качества сырых данных. Нами был разработан и протестирован программный комплекс, включающий в себя имеющиеся в открытом доступе программы для оценки качества библиотек секвенирования: AfterQC (v0.9.7), fastp (v0.23.2), PRINSEQ++ (v1.2.4), SolexaQA++ (v3.1.7.2). Результаты каждого запуска записывались в лог-файл для последующего сравнения. Автоматизация процесса тестирования осуществлялась с помощью дополнительных инструментов: FastQC (v0.11.9), MultiQC (v1.12) и пользовательского скрипта Python (v3.9). Набор данных для тестирования состоял из 50+ библиотек секвенирования целых экзомов (WES).

Результаты: широкая функциональная настройка, поддержка многопоточности позволяет fastp обрабатывать данные NGS гораздо быстрее и с лучшим качеством результатов. Исследование проводилось на тестовом наборе данных со следующими временными затратами: fastp – 12 сек (±5 сек.), SolexaQA++ – 1 мин. 26 сек. (±9 сек.), PRINSEQ++ – 1 мин. 39 сек. (±9 сек.), AfterQC – 6 мин. 28 сек. (±25 сек.). Ручной контроль качества полученных библиотек также подтвердил эффективность модуля fastp.

Выводы: fastp является наиболее удобным инструментом для оценки качества и фильтрации данных секвенирования нового поколения (NGS). Библиотеки, обработанные с помощью fastp, имели лучшие показатели качества, а также более высокую скорость их обработки.

СОЗДАНИЕ КОНСТРУКЦИИ МАТРИЧНОЙ РНК *IN VITRO*

Д. И. Боброва, Д. Д. Антонова, А. Д. Перенков

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
bobrova2116@gmail.com

В современном обществе проблема онкологических заболеваний остается одной из важнейших и наиболее актуальных. Среди разнообразия методов лечения особое внимание привлекают мРНК вакцины. Для более широкого применения в практике необходимо сконструировать мРНК, которую далее можно применять в терапии различных заболеваний.

Исходя из вышеизложенного целью работы явилось создание конструкции мРНК для дальнейшего использования в противоопухолевой терапии.

Материалом для работы явились плазмидный вектор pUC57, а также регуляторные элементы для сборки ДНК-конструкции, такие как β-глобин, mtRNR1-AES и PolyA-хвост, синтезированы компанией «Beagle».

Для сборки элементов конструкции между собой использовали метод ПЦР с перекрывающимся расширением. Выделение плазмиды осуществляли из суточной бактериальной культуры *E. coli* DH5a, выращенной на среде LB. Амплификацию фрагментов проводили методом ПЦР. Определение нуклеотидной последовательности полученных плазмид осуществляли методом секвенирования по Сэнгеру. Для проведения *in vitro* транскрипции использовали набор HighScribe T7 (NEB, Великобритания).

Нуклеотидные последовательности регуляторных элементов, а также белка eGFP были объединены в цельную ДНК конструкцию для последующей транскрипции *in vitro*. Далее с использованием ферментов эндонуклеазы рестрикции и лигазы объединяли конструкцию и линейизированную плазмиду pUC57. После чего проводили химическую трансформацию компетентных клеток *Escherichia coli* DH5a плазмидой со встроенной конструкцией. Скрининг клонов на наличие генов интереса осуществляли ПЦР. Результаты амплификации визуализировали посредством электрофореза в агарозном геле относительно маркера длин ДНК. Среди всех клонов, содержащих конструкцию, отобрали один, проверенный секвенированием. Выделяли из него плазмиду и амплифицировали конструкцию длиной около 1200 нуклеотидов. Далее проводили транскрипцию полученной ДНК платформы.

В результате, ДНК-конструкция включает в себя последовательность белка eGFP – флуоресцентный зеленый белок, а также наиболее оптимальные для процесса трансляции β-глобин как 5-НТР, mtRNR1-AES в качестве 3-НТР и PolyA-хвост длиной 120 п.н. Аналог структуры Cap – ARCA – добавлялся к мРНК.

В итоге, согласно результатам секвенирования, нами была получена ДНК-конструкция для синтеза мРНК, соответствующая нужной нуклеотидной последовательности. Процесс транскрипции прошел успешно и подтвержден результатами электрофореза РНК в агарозном геле.

ПОЛУЧЕНИЕ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ МАТРИКСОВ С ОЦЕНКОЙ БИОБЕЗОПАСНОСТИ *IN VITRO*

А. Ю. Богомолова¹, П. С. Ермакова¹, Е. А. Васильчикова^{1, 2}, Ю. М. Целоусова¹, А. В. Кашина¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

baleksandra@icloud.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Трансплантация островков Лангерганса (ОЛ) – наиболее перспективный вариант лечения инсулин-дефицитных состояний. Важной проблемой остается непродолжительность выживания и функциональной активности ОЛ из-за деструкции внеклеточного матрикса (ВКМ) при выделении клеток и нарушение васкуляризации и оксигенации при их трансплантации. Актуально использование тканеинженерных подходов для повышения эффективности трансплантации ОЛ. В настоящее время активно используются тканеинженерные конструкции (ТИК) различных тканей и органов как на основе созданных материалов-носителей (искусственных и природных), так и полученных из нативных органов. Преимуществом обладают ТИК на основе децеллюляризованных (ДЦЛ) матриксов, поскольку именно эти матриксы обладают необходимой архитектоникой и сохранностью нативных белков ВКМ. На сегодняшний день не создано эффективного ТИК поджелудочной железы (ПЖ) на основе инсулин-продуцирующих клеток и ДЦЛ матрикса. Кроме того, из-за нехватки донорских органов поджелудочной железы остается актуальным не только поиск альтернативных органов для получения дВКМ, но и источника органов, в частности ксеногенного материала.

Целью нашей работы являлось получение ДЦЛ матриксов органов свиньи, оптимизация наиболее удачной методики ДЦЛ и оценка их биобезопасности *in vitro*. В качестве объектов исследования использованы следующие органы: легкие и ПЖ свиньи породы Визинау. Было апробировано несколько протоколов ДЦЛ для каждого из органов. Структуру матрикса и качество удаления клеточного компонента оценивали путем приготовления гистологических препаратов по методике окрашивания гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Остаточную ДНК в ДЦЛ матриксах анализировали с использованием набора реагентов ExtractDNA Blood & Cells. Был поставлен и отработан протокол получения жизнеспособных и функционально активных ОЛ. Матриксы, с минимизированной остаточной клеточной компонентой, были использованы для дальнейших исследований, а именно, инкубацией ОЛ на матриксах. Проводилась оценка жизнеспособности ОЛ при помощи окрашивания *live/dead* на 3 и 7 сутки инкубации, как без матрикса, так и на ДЦЛ матриксе легкого и ПЖ. Получены бесклеточные органные матриксы органов свиньи. Для проведения ДЦЛ легкого подходит методика с использованием SDS и SDC, а для ПЖ – с использованием SDS. В случае легкого и ПЖ, показано высокое сохранение коллагеновых и эластиновых волокон, не наблюдаются клетки или остаточные ядра. Концентрация ДНК статистически значимо снижается в дВКМ легкого и в дВКМ ПЖ по отношению к контрольным образцам. На 7-й день инкубации процент жизнеспособных ОЛ статистически значимо увеличивается при инкубации на ДЦЛ матриксах по сравнению с ОЛ, находящимися в питательной среде. Легкое может быть использовано в качестве альтернативного органа для получения дВКМ.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава РФ «Технология компенсации инсулинодефицита аутологичными островками Лангерганса у больных с новообразованиями поджелудочной железы после радикального хирургического лечения» №720000Ф.99.1.БН62АБ30000.

ОЦЕНКА КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА ГОРОДОВ (НА ПРИМЕРЕ Г. НИЖНЕГО НОВГОРОДА)

А. Д. Большакова, Н. И. Зазнобина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anzhela.bolschakova@yandex.ru

С начала XXI века в Российской Федерации ежегодно регистрируются более 450 тысяч впервые выявленных случаев злокачественных новообразований. По данным Росстата в России за последнее десятилетие уровень общей онкозаболеваемости вырос в 1,5 раза. В Нижегородской области в 2022 году зарегистрировано 166 943 случаев заболеваний новообразований различной локализации, среди которых 42 218 случая было выявлено впервые. Наиболее распространёнными заболеваниями в регионе являются злокачественные новообразования молочной железы, органов дыхательной системы и новообразований кожи.

В атмосферный воздух г. Н. Новгорода ежедневно выбрасывается огромный объем поллютантов от передвижных и стационарных источников (ООО «ЛУКОЙЛ-Нижегороднефтеоргсинтез», ПАО «Объединённая авиастроительная корпорация», ОАО «ГАЗ», НАО «Гидромаш»). Регулярное превышение ПДК загрязнителей в атмосфере вызывает развитие хронических заболеваний у населения г. Н.Новгород.

Целью исследования являлась оценка канцерогенного риска для здоровья населения г. Н. Новгорода, обусловленного выбросами поллютантов в атмосферный воздух.

Оценка канцерогенного риска проводилась в соответствии с Р 2.1.10.1920–04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду». Результаты расчета индивидуального канцерогенного риска для жителей г. Н. Новгорода за исследуемый период соответствуют низкому уровню по формальдегиду (10^{-6}), бензолу (10^{-5}) и этилбензолу (10^{-6}), что по шкале приемлемости риска является приемлемым. Рассчитанные значения пожизненного популяционного канцерогенного риска (из расчета на среднюю численность населения г. Нижнего Новгорода – 1 252 236 человек) при ингаляционном поступлении формальдегида и бензола из воздуха будут равны 70 и 64 дополнительных новообразований различной локализации в год соответственно. Для этилбензола величина популяционного риска составляет 9 дополнительных случаев злокачественных новообразований в год.

Наиболее неблагоприятная обстановка по содержанию формальдегида и бензола в воздухе складывается в административных районах Заречной части г. Н. Новгорода (Автозаводском, Московском, Ленинском и Канавинском районах), где сосредоточены крупнейшие промышленные предприятия города, а также имеются неблагоприятные для рассеивания загрязняющих веществ метеоусловия. Это требует необходимости разработки и реализации мероприятий, направленных на снижение загрязнения атмосферного воздуха веществами, являющимися прекурсорами формальдегида и бензола, участвующими в фотохимических реакциях с образованием данных поллютантов.

БЕЗОПАСНЫЕ МРТ ИССЛЕДОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ИМПЛАНТИРОВАННЫМИ УСТРОЙСТВАМИ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

А. А. Бондаренко, М. Б. Сухова, А. Н. Анисимов, А. Н. Барсков, М. В. Аболенская, А. В. Закревский, В. Н. Лобанов, С. Н. Сухова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
judo13.bondarenko@yandex.ru

На фоне ежегодного расширения показаний к использованию диагностических возможностей МРТ диагностики увеличивается количество пациентов, перенесших замену клапанов сердца, имеющих коронарные стенты и электрокардиостимуляторы (ЭКС).

Цель: проанализировать условия безопасного выполнения МРТ исследований и оценить потенциальные негативные эффекты магнитного поля для пациентов с имплантированными медицинскими устройствами кардиохирургического профиля.

Материалы и методы: проведен разбор 11 клинико-диагностических случаев МРТ исследований сердца с напряженностью магнитного поля 1,5 Тс пациентов с искусственными клапанами сердца (n = 5), МР-совместимыми кардиостимуляторами (n = 3), коронарными стентами (n = 6). На каждое имплантируемое устройство в теле пациента имелась инструкция по эксплуатации, включающая данные по безопасности и совместимости с МРТ. Информация об МР-совместимости импланта была предоставлена пациенту и отражена в истории болезни в виде соответствующей записи. Получено согласие пациента на исследование.

Результаты:

В группе пациентов с искусственными клапанами сердца всем пациентам удалось выполнить МР-исследование, однако у 4 пациентов не удалось визуализировать потоки на искусственном клапане при стандартных рекомендованных МР-режимах, что потребовало изменения МР-протокола и снизило диагностическую ценность исследования.

В группе пациентов со стентами коронарных артерий погрешностей в оценке потоков на клапанах сердца не получено, у 1 пациента отмечались артефакты от стентированного сегмента правой коронарной артерии, затрудняющих детализацию прилежащих отделов миокарда.

В группе пациентов сочетанием клапана и стента физические артефакты не суммировались и были аналогичными в группах с изолированными имплантированными устройствами подобного рода.

В группе пациентов с МР-совместимыми электрокардиостимулятором (ЭКС) у всех пациентов неудовлетворительным была визуализация правых камер сердца, однако при изменении и расширении протокола сканирования оценить клапаны левых отделов и миокард левого желудочка удалось получить во всех случаях.

Выводы: Безопасное и эффективное обследование методом МРТ у пациентов с имплантированными МР совместимыми устройствами кардиохирургического профиля возможно с хорошим диагностическим результатом при квалифицированном отборе пациентов на МР процедуру, в т.ч. согласно инструкциям, существующим для каждого вида устройств, – основные из которых – время с момента имплантации до времени проведения МР исследования; величина индукции магнитного поля, время и типы используемых импульсных последовательностей, максимальный удельный коэффициент поглощения при сканировании.

ОСОБЕННОСТИ СЕНСОМОТОРНЫХ РЕАКЦИЙ СТУДЕНТОВ РАЗЛИЧНОЙ СПОРТИВНОЙ ПОДГОТОВКИ

И. В. Бочарин¹, М. С. Гурьянов¹, М. А. Широкова¹, Д. В. Крохин¹, Л. Р. Диленян¹, Н. А. Лазарев¹, А. К. Мартусевич^{1,2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

bocharin.ivan@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Введение. В процессе занятий физической культурой и спортом существует необходимость прогнозирования эффективности занятий двигательной активностью, для чего могут использоваться методы исследования сенсомоторных характеристик. При оценке нейродинамических особенностей становится возможным получить достаточно полную информацию о готовности человека к тренировочному процессу. Цель исследования – изучение особенностей сенсомоторных реакций студентов, занимающихся единоборствами различной спортивной подготовки.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 54 студента Приволжского исследовательского медицинского университета мужского пола, в возрасте 19–20 лет. Испытуемые были разделены на две группы: первую группу составили 24 добровольца, без специальной подготовки и спортивных разрядов, занимающиеся единоборствами в рамках элективных занятий по физической культуре и спорту на базе университета. Вторую группу представляли 30 испытуемых, входящих в состав сборной университета по самбо и айкидо. При исследовании использовали методику «реакция выбора», в котором испытуемому предлагалось нажать на соответствующую кнопку пульта при появлении стимулов на экране красного или зеленого цвета. Количество предъявляемых стимулов было не менее 70. Данные обрабатывали с помощью методов вариационной статистики и прикладных программ Statistica и Excel.

Результаты. Результаты теста зрительно-моторной реакции оценивались по среднему времени реакции, которая отражает скорость реагирования, а, следовательно, скорость обработки информации от зрительного анализатора и распространение волны возбуждения по рефлекторной дуге к исполнительному органу для осуществления нажатия. Установлено, что общее время реакции спортсменов превышает аналогичный показатель студентов, занимающихся в рамках элективных занятий на 9,7%, что в целом является закономерностью, учитывая опыт обучающихся, имеющих опыт спортивных тренировок. Также, среднее время правильных реакций среди испытуемых без спортивного опыта оказалось меньше относительно спортсменов на 34,2% ($p < 0,05$). Следует отметить, что сенсомоторные реакции у студентов без спортивного опыта оказались менее стабильными, с учетом полученных значений стандартного отклонения, которое у испытуемых этой группы было выше на 8,5% относительно группы спортсменов ($p < 0,05$).

Выводы. Студенты сборных команд по айкидо и самбо имеют более высокую скорость сенсомоторной реакции на зрительный стимул. Кроме того, среди них были выявлены более лучшие результаты среднего времени правильных и неправильных реакций. Наличие спортивной специализации влияет на лабильность и подвижность нервных процессов, а также способность более продолжительное время не испытывать состояние утомления.

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОМА ПОЧВЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ АССОЦИАЦИИ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

В. Е. Брызгун, А. М. Петерсон

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83;
jv_kaps@mail.ru

Микробиом почвы оказывает первостепенное влияние на формирование ризосферных бактериальных ассоциаций всех растений, в том числе и сельскохозяйственных. Целью данной работы стало выявление степени влияния видового состава бактериальных доминантов почв сельскохозяйственного назначения на бактериальные ассоциации клубней картофеля (*Solanum tuberosum* L., 1753) в условиях Саратовской области. Всего было исследовано 64 клубня и 12 образцов почвы из 6 районов Саратовской области.

Микробиологические исследования клубней картофеля проводили в двух направлениях: посев отпечатком поверхности и посев внутренних тканей на картофельную среду и ГРМ-агар. Исследование почвы проводили методом последовательных разведений и посевов суспензий разной концентрации на питательный агар. Посевы культивировали при +28°C в течение 3 суток. Проводили количественный учёт выделенных штаммов и отсеивали чистых культур для дальнейшего изучения. Идентификацию изолятов осуществляли стандартными методами по фенотипическим признакам.

В ходе исследования было выделено 47 штаммов бактерий, которые в результате идентификации были отнесены к 9 видам бактерий (*Bacillus halmapalus*, *B. neidei*, *B. niacin*, *B. pseudocalophilus*, *B. psychrodurans*, *B. simplex*, *B. siralis*, *B. vedderi*, *Erwinia amylovora*).

Самыми распространёнными микроорганизмами почвы являлся *B. psychrodurans*, который выделялся в 83% проб почв из правобережья и в 100% проб из левобережья области, но его концентрация в почвах не превышала 50 КОЕ/г. Однако, ни на поверхности, ни во внутренних тканях клубней этот вид обнаружен не был. Другой почвенный доминант – *B. simplex* – встречался реже (33% проб), но его количественные показатели были выше (100 КОЕ/г). Этот вид выделялся в 23% проб клубней, причём как с поверхности, так и из внутренних тканей. Таким образом, не все почвенные доминанты способны успешно заселять клубни картофеля. Вместе с тем, основной доминант ризопланы клубней картофеля, характерный для всех районов области, *B. siralis* не выделялся из образцов почв. *B. niacin*, *B. vedderi* были выделены только из внутренних тканей клубня картофеля и не встречались на поверхности и в почве. Индекс общности видового состава бактериального микробиома почвы и поверхности клубней составил 12,5%, почвы и внутренних тканей клубней – 20%. Более близки (индекс общности 29%) оказались микробиомы поверхности и внутренних тканей самих клубней картофеля. Таким образом, клубни картофеля являются очень специфической экологической нишей, имеющей собственную микробиоту, существенно отличающуюся от микробиоты окружающей почвы.

ВИДОВАЯ СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА ШУВАЛОВСКОГО КАНАЛА В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ РЕКУЛЬТИВИРОВАННОЙ СВАЛКИ (ПО ДАННЫМ 2023 ГОДА)

В. А. Бубнов, Д. Е. Гаврилко

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
viktor.bubnov03@mail.ru

В условиях усиленного антропогенного воздействия изучение изменения структурных характеристик гидробиоценозов становится всё более актуальным. Шуваловский канал – водоток искусственного происхождения, созданный на месте небольших озёр, расположен в Автозаводском и Ленинском районах города Нижнего Новгорода. В 2022 году на территории Шуваловской промзоны была рекультивирована свалка промышленных и бытовых отходов. На сегодняшний день отсутствуют сведения о том, как рекультивация свалки повлияла на планктонные сообщества водотока. Цель работы – характеристика видовой структуры сообществ зоопланктона Шуваловского канала в зоне влияния рекультивированной свалки. Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, собранные в июле 2023 года на двух участках Шуваловского канала расположенных вблизи рекультивированной свалки. Отбор и обработку проб проводили общепринятыми в практики гидробиологических исследований методами. Всего было собрано и обработано 9 проб зоопланктона (7 – в пелагиали, 2 – в литорали).

В зоопланктоне исследованного участка Шуваловского канала было идентифицировано 77 видов (*Rotifera* – 34, *Cladocera* – 30, *Copepoda* – 13). Большинство видов являлись широко распространёнными в планктоне водоёмов умеренной зоны. Среди идентифицированных видов был найден вид-вселенец – североамериканская коловратка *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908).

В сообществе зоопланктона, расположенного выше свалки, доминировали науплиальные стадии веслоногих ракообразных, коловратки *Keratella quadrata* (O.F. Müller, 1786) и *Polyarthra vulgaris* (Carlin, 1943). Общая численность зоопланктона составила 172,0-273,5 тыс. экз./м³, биомасса – 0,36-0,78 г/м³. Зоопланктоценоз участка, примыкающего к свалке, характеризовался доминированием веслоногого рачка *Thermocyclops oithonoides* (Sars, 1863), ветвистоусого рачка *Bosmina longirostris* (O.F. Müller, 1785) и младших возрастных стадий веслоногих ракообразных. Общая численность зоопланктона составила 107,6-227,2 тыс. экз./м³, биомасса – 0,86-1,75 г/м³.

В сообществах зоопланктона зарослей макрофитов преобладали ветвистоусые рачки *Chydorus sphaericus* (O.F. Müller, 1785) и *Ceriodaphnia reticulata* (Jurine, 1820). Количественное развитие зоопланктона было выше, чем в пелагиали (численность – 500,8-619,4 тыс. экз./м³, биомасса – 4,43-11,23 г/м³).

Таким образом, сообщества зоопланктона Шуваловского канала в зоне влияния свалки различались между собой по видовой структуре и количественному развитию. Зарослевые сообщества играли большую роль в самоочищении водотока благодаря доминированию в них планктонных фильтраторов.

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПРЕДСКАЗАННЫХ ПРОМОТОРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ 1-Й ХРОМОСОМЫ ГЕНОМА РИСА

А. Н. Бубнова, И. В. Яковлева, С. Е. Гайдукова, А. М. Камионская

ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва, просп. Ленинский, 33;

an_bubnova@mail.ru

В данной работе исследовались предсказанные ранее в работах Короткова Е.В. промоторные последовательности 1-й хромосомы генома риса *Oryza sativa*, идентифицированные с помощью математического алгоритма, основанного на выводе и расчете статистически значимых классов промоторов – MADHS.

Предсказанные потенциальные промоторы 1-й хромосомы генома риса были проверены на отсутствие пересечения с известными аннотированными промоторами и транскриптами. Затем в исследуемых промоторах были идентифицированы области ТАТА-мотивов, а также элементы, регулирующие экспрессию генов. Было выявлено, что цис-регуляторные элементы участвуют в реакции на абсцизовую кислоту; низкотемпературный стресс; MeJA-отзывчивость; экспрессию подавления фитохрома; анаэробную индукцию; гиббереллин-чувствительность; световую отзывчивость; чувствительность к ауксину и экспрессию меристемы.

Одним из важных критериев для доказательства наличия промоторного участка в геноме является расположение за ним транскрибируемой области. Для поиска неаннотированных транскриптов были проанализированы данные секвенирования-CAGE. В результате анализа были обнаружены КЭП-участки, расположенные в свободных от известных аннотированных генов областях генома риса, что может указывать на возможное существование ранее неаннотированных транскриптов. Среди таких неаннотированных потенциальных сайтов начала транскрипции были выявлены располагающиеся не далее 1000 п.о. относительно предсказанных промоторов. Такие предсказанные промоторы действительно могут представлять собой промоторную область генома, с которой начинается транскрипция, поскольку за ними существуют потенциальные неаннотированные сайты начала транскрипции.

Также в области предсказанных промоторов была изучена доступность хроматина путём анализа данных АТАС-секвенирования. Идентифицированы предсказанные промоторные последовательности, которые располагаются в открытой области хроматина, свободной для посадки факторов транскрипции.

В результате данной работы были выявлены предсказанные последовательности, которые с наибольшей вероятностью могут являться промоторами, а именно: последовательности, содержащие ТАТА-мотивы и некоторые цис-регуляторные элементы; последовательности, за которыми в направлении downstream следуют неаннотированные сайты начала транскрипции; а также последовательности, расположенные в открытой области хроматина. Выявленные предсказанные промоторы мы считаем наиболее перспективными для дальнейшего экспериментального анализа *in vivo* или *in vitro*.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения №075-15-2022-318 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

РАСЧЁТ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА ЖИТЕЛЕЙ НИЖНЕГО НОВГОРОДА ПО СТЕПЕНИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ CpG-ДИНУКЛЕОТИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИНЕЙНОЙ МОДЕЛИ

И. А. Будруев, Е. А. Давыдова, Т. В. Тулунова, А. Д. Перенков, И. И. Юсипов, М. В. Ведунова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ivanbudruev@yandex.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. Сейчас основное внимание уделяется созданию часов с меньшим количеством CpG-сайтов, что позволяет проводить эпигенетическое профилирование возраста значительно дешевле. Сокращение числа CpG также повышает точность.

Целью данной работы явилось построение мульти регрессионной линейной модели описывающей зависимость возраст-ассоциированных CpG-динуклеотидов у жителей Нижнего Новгорода для расчета биологического возраста.

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

Оценку метилирования провели при помощи метода MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием системы MassARRAY (iPLEX assay, Agena Bioscience, США). Для построения модели были отобраны 5 CpG, степень метилирования которых имела наибольший коэффициент корреляции с хронологическим возрастом добровольцев. Построение модели выполнено при помощи программного обеспечения IBM SPSS Statistics (IBM, США).

В ходе работы построена мульти регрессионная линейная модель, R-квадрат которой составил 0,811 при $p < 0,05$. Значения коэффициентов модели составили: cg00481951(0,553), cg07553761(0,566), cg06639320(0,328), cg23500537(0,262), cg11649376(-0,738), константа(31,775).

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

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА РАПАМИЦИНА НА МОДУЛИРОВАНИЕ ФУНКЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ

А. В. Бурцева, Э. В. Смирнова, С. Н. Абрамов, М. В. Тихомирова, З. И. Абрамова
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
anvburceva@stud.kpfu.ru

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) является наиболее распространенным аутоиммунным заболеванием и связан с лимфоцитарной инфильтрацией и высоким уровнем антитиреоидных антител, что приводит к разрушению ткани щитовидной железы и гипотиреозу. В настоящее время гормонозаместительная терапия левотироксином является основным методом облегчения симптомов гипотиреоза. Однако отсутствуют методы воздействия на аутоиммунный процесс в щитовидной железе. Поэтому подавление аутореактивных лимфоцитов с помощью иммунодепрессанта рапамицина может представлять новый терапевтический подход для лечения аутоиммунного тиреоидита.

Действие рапамицина исследовано на культурах Т-лимфоцитов пациентов с АИТ, а также на мышинной модели соответствующего заболевания. Для оценки пролиферации Т-регуляторных лимфоцитов популяция РВМС пациентов с АИТ была активирована с использованием моноклональных антител против CD3 и CD28 в отсутствие или в присутствии 200 нМ рапамицина в течение 3 суток в среде RPMI 1640 с добавлением 10% FBS. Содержание CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ Treg определялось с помощью проточной цитометрии.

Для изучения влияния рапамицина на клиническое состояние были использованы самки линии C57BL возраста 6 недель. Животные были поделены на 3 группы. Контрольная группа получала только плацебо. Индукция классического экспериментального аутоиммунного тиреоидита (ЭАТ) проводилась с использованием иммунизации тиреоглобулином у мышей в двух группах: группе ЭАТ и группе, получавшей лечение рапамицином. Через 14 суток мыши были ревакцинированы. После индукции группы ЭАТ и группа, получавшая лечение, получали либо плацебо, либо 1 мг/кг рапамицина 3 раза в неделю в течение 5 недель. Был проведен гистологический анализ щитовидной железы и измерены общие концентрации сывороточных аутоантител к мышинной тиреопероксидазе методом ИФА.

В результате исследования выявлено, что рапамицин увеличивал процентное содержание CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ Т-лимфоцитов в группе пациентов с АИТ. По результатам анализа тканей щитовидной железы было обнаружено разрушение её фолликулов у группы с ЭАТ по сравнению с контрольной группой и группой, получавшей лечение рапамицином. Также лечение рапамицином снизило уровень активированной Caspase-3 у мышей с ЭАТ. Результаты ИФА показали, что уровень антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) значительно возрастал у мышей с ЭАТ по сравнению с контрольными мышами, в то время как лечение рапамицином значительно снижало уровень АТ-ТПО у мышей с ЭАТ.

Таким образом, использование рапамицина для лечения мышей с индуцированным аутоиммунным тиреоидитом привело к уменьшению производства антител к тиреопероксидазе и уменьшению апоптоза фолликулов щитовидной железы, что указывает на подавление аутоиммунного процесса рапамицином.

Исследование выполнено при поддержке РФФ (№ 23-25-00443).

ВЛИЯНИЕ ОБРЕЗКИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ЛИПЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ «ПАЛЛИДА» В ГОРОДСКОЙ СРЕДЕ

В. В. Бушнев, Г. В. Демина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
bushuevvyacheslav80@yandex.ru

Обрезка зеленых насаждений является высокопрофессиональным арбористическим приемом, позволяющим сохранять жизнеспособность и долголетие деревьев. Обрезка оказывает существенное влияние на физиологическое состояние деревьев, гормональный статус, архитектуру кроны и устойчивость к фитопатогенам. Правильный и своевременный уход за деревьями, в том числе обрезка, должен сопровождать их на протяжении всей жизни, что отразится не только на жизнеспособности и здоровье растений, но и на их эстетическом виде. Это в особенности актуально для парковых и рекреационных зон городской среды. К сожалению, часто мероприятия по обрезке деревьев проводятся без соблюдения безвредных для растения арбористических техник и приемов, кроме того, обрезку деревьев проводят в неподходящий для этого сезон, что в конечном итоге сильно сказывается на состоянии растений и в дальнейшем может привести к разрушению «зеленого ландшафта» города. В связи с этим, нами было проведено сравнение морфологических показателей деревьев липы европейской сорта «Паллида», подвергшимся двум техникам обрезки. Данный вид деревьев был выбран в связи с тем, что липы сорта «Паллида» являются популярными и широко распространёнными деревьями, используемыми в озеленении городской среды, в особенности города Казань. Нами были сформированы две экспериментальные площадки, на которых произрастали липы одинакового возраста, подвергавшиеся двум методам обрезки. Один из них считается классическим методом обрезки (топпинг), другой – новым и современным методом обрезки (поллардинг). Топпинг – это способ обрезки по габитусу дерева методом интернодального среза. Поллардинг – это традиционная практика, состоящая из многократной (ежегодной) обрезки ветвей текущего года на одном и том же месте, в результате которой формируется, так называемая «головка» полларда или «кулак» – утолщение с большим числом спящих почек. В ходе двухлетнего мониторинга (2021-2022) таких морфометрических параметров как, обхват ствола дерева, прирост однолетних ветвей, общая площадь листовых пластинок на 10 г лиственной биомассы, было выявлено, что деревья, подвергавшиеся обрезке по методу поллардинг обладали более высокими показателями ежегодного прироста ствола, длины побегов и большим числом почек. Кроме того, поллардинг позволяет формировать сложные виды архитектуры кроны деревьев, что в свою очередь увеличивает эстетические качества зеленых насаждений, сформированных данным способом.

ПЕРВЫЕ ИТОГИ ПАЛИНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ФЛОРИСТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ НА ТЕРРИТОРИИ ПРОВЕДЕНИЯ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ РАСКОПОК МОГИЛЬНИКА МАЛАЯ РЯЗАНЬ I

Е. Д. Быстрова^{1,2}

¹Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева, 443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34;

gribcaterina@yandex.ru

²Институт экологии Волжского бассейна РАН – филиал Самарского федерального исследовательского центра РАН, 445003, Тольятти Самарской обл., ул. Комзина, 10

На территории села Малая Рязань Ставропольского района Самарской области в ноябре 2022 года проводились археологические раскопки могильника Малая Рязань I. Могильник находится на южной оконечности Самарской Луки на высоком берегу р. Волга.

В рамках исследования 2022 года на территории могильника проведено описание фитоценоза с целью фиксации современного видового состава, интерпретации естественного состояния растительности и выявления потенциальных изменений, которые могли произойти с течением времени. С раскопа были отобраны почвенные образцы, по которым был проведен спорово-пыльцевой анализ (СПА).

Видовой описание показало, что данное растительное сообщество имеет характерный степной состав флоры. Описывая исследуемое растительное сообщество, можно выделить доминирующие виды: костер безостый (*Bromopsis inermis* (Leys.) Holub), вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth), мятлик луговой (*Poa pratensis* L.), пырей ползучий (*Elytrigia repens* (L.) Nevski), земляника лесная (*Fragaria vesca* L.), овсяница валлисская (типчак) (*Festuca valesiaca* Gaudin), полынь обыкновенная (*Artemisia vulgaris* L.), вероника колосистая (*Veronica spicata* L.), бодяк полевой (*Cirsium arvense* (L.) Scop.). Также были обнаружены рудеральные и адвентивные виды растений, такие как: цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.), лопух малый (*Arctium minus* (Hill) Bernh.), икотник серый (*Berteroa incana* (L.) DC.), бодяк обыкновенный (*Cirsium vulgare* (Savi) Ten.). Наличие сорных видов обуславливается близкой расположенностью территории исследования к населенному пункту. Обнаруженный боярышник волжский (*Crataegus volgensis* Pojark.) является эндемиком Приволжской возвышенности, включен в Красную книгу Самарской области.

В результате СПА были выявлены пыльца и споры 17 таксонов, которые принадлежат к 14 семействам: *Betulaceae*, *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Tiliaceae*, *Chenopodiaceae*, *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Brassicaceae*, *Polypodiaceae*, *Dennstaedtiaceae*, *Polygonaceae*, *Sphagnaceae*, *Aceraceae*, *Ulmaceae*. Наиболее часто встречаются семейства *Betulaceae* и *Asteraceae*. Полученные результаты СПА позволяют сделать вывод о преобладающем содержании пыльцы трав на всех почвенных горизонтах исследуемой территории. Наблюдается изменение состава видов пыльцы с увеличением глубины образцов почвы, *Artemisia* и *Pinus* имеют высокое количество пыльцы на глубинах 55-65 см и 65-75 см. *Artemisia* выделяется среди всех видов пыльцы как наиболее часто встречающийся во всех образцах почвы, особенно на глубинах 25-35 см и 60-70 см. *Pinus* также показывает значительное присутствие, особенно на глубине 55-65 см. Можно заметить, что пыльца некоторых таксонов имеют схожие динамики распределения. Например, *Artemisia* и *Betula* имеют схожие паттерны на некоторых почвенных горизонтах.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕЛОМЕР-ТЕЛОМЕРАЗНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС В МОДЕЛИ АУТИЗМА

Е. В. Валеева, Л. С. Никифорова, Д. О. Никитин, И. И. Семина

Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49;
vevaleeva@ya.ru

В последнее время интенсивно продолжается поиск новых биомаркеров аутизма и новых мишеней для воздействия лекарственных средств. В рамках этого поиска рассматриваются теломеры – основная функция которых заключается в защите хромосом от деградации и слияния, обеспечивая геномную целостность. Длина теломер поддерживается активностью фермента теломеразы, и нарушение регуляции этого фермента может быть фактором риска развития аутизма.

Целью работы являлась оценка теломер-теломеразной системы в клетках крови, гиппокампа префронтальной коры у крыс в модели аутизма.

Биоматериалом для исследования служила выделенная ДНК и РНК из клеток крови и отдельных структур мозга 40 половозрелых белых лабораторных крыс, которые были разделены на две группы: группа I – крысы в модели аутизма (10 самок и 10 самцов), и группа II – контрольная группа (10 самок и 10 самцов). Моделирование вальпровой модели аутизма проводилось путем подкожного введения вальпровой кислоты беременным самкам на 13-й день гестации. С использованием обратной транскрипции и мРНК была получена кДНК. Для оценки экспрессии семи генов субъединиц теломеразы и относительной длины теломер проводили ПЦР в реальном времени с использованием синтезированных праймеров. Анализ уровня экспрессии генов проводился с использованием формулы $2^{-\Delta\Delta Cq}$ (Livak, Schmittgen, 2001) и референсного гена *Gapdh*. Расчет длины теломер проводился по методу Cawthon (2002). Статистическая обработка проводилась с использованием программы GraphPad Prism.

В результате исследования было показано, что только у самцов в модели аутизма относительная длина теломер в клетках крови была выше, чем в контрольной группе ($p = 0.002$). В то же время, значимых различий в относительной длине теломер в клетках префронтальной коры и гиппокампа у самок и самцов в модели аутизма не обнаружено ($p > 0.05$). В клетках крови было отмечено увеличение экспрессии гена *Pot1* у самцов в модели аутизма ($p = 0.028$), а у самок – снижение экспрессии гена *Ter1* ($p = 0.035$). В гиппокампе уровень экспрессии генов *Pot1* и *Tnks* снижался у самок в модели аутизма по сравнению с контролем ($p = 0.0422$ и $p = 0.025$, соответственно).

Таким образом, в экспериментальной модели аутизма на белых лабораторных крысах была продемонстрирована особенность теломер-теломеразной системы, которая ранее не была показана. Для определения причин таких дисфункций при расстройствах аутистического спектра требуются дальнейшие исследования в этой области.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (№ 23-25-00325).

ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И АНАЛИЗ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ АРОМАТИЧЕСКИХ О-ДЕМЕТИЛАЗ P450

Э. Э. Валиахметов, Г. А. Кунгуров, Э. Р. Сулейманова, А. Ю. Суханов, Н. В. Трахтман, Ш. З. Валидов

ФИЦ Казанский научный центр РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31;
emlvaliakhmetov@yandex.ru

Лигнин является вторым по распространенности биополимером в мире, который ввиду недостаточной эффективности его использования и переработки, не используется в должной мере. Гидролиз лигнина приводит к образованию значительного количества гваяколового и сиринголового типа мономеров, которые должны быть О-деметилованы для получения продуктов, пригодных для биоконверсии посредством бактериального метаболизма. Считается, что реакция О-деметилирования, катализируемая цитохром P450 О-деметилазами, является реакцией «бутылочного горлышка» в пути деградации лигнина. Несмотря на это, количество охарактеризованных О-деметилованных ферментов все еще невелико. Изучение данных ферментов с различной субстратной специфичностью в отношении ароматических соединений, позволило бы с помощью белковой инженерии получить О-деметилованные ферменты, биокаталитические свойства которых нашли бы применение в эффективной утилизации и валоризации лигнина. К наиболее привлекательным ферментам данного семейства ввиду их широкой специфичности относят GcoA, AgcA и SuoA. Данные белки были экспрессированы и очищены в системе *Escherichia coli* для дальнейшего изучения их свойств и структуры. Оптимизированные последовательности генов (*gcoA*, *agcA* и *suoA*) были синтезированы и клонированы в экспрессионный вектор pET-GB1a. Экспрессию проводили в штамме BL21(DE3) pLysS при 37°C и 200 об/мин в течение 4 часов. Целевой белок очищали методами аффинной и эксклюзионной хроматографии. Выход белка на 1 л культуры при этом составил более 50 мг для каждого исследуемого белка. Чистота образцов составила не менее 95%. Для определения субстратной специфичности ферментов был проведен анализ спектрофотометрической характеристики каждого фермента до и после добавления субстратов (гваякол, крезол, сирингол, 2-метокси-4-пропилфенол, 4-гидрокси-3-метоксифенилацетон и 3,5-диметокси-4-гидроксиацетофенон). Как и в других P450, в исследуемых ферментах при связывании с субстратом происходит перегруппировка d-орбитальных электронов и образование пятивалентной формы железа, что сопровождается смещением пика поглощения белков из области 430 нм (пик Core) в область 390 нм. Из полученных данных следует, что GcoA связывает все тестируемые субстраты кроме 3,5-диметокси-4-гидроксиацетофенона; AgcA оказался способен связывать крезол и 2-метокси-4-пропилфенол; SuoA, в свою очередь, не показал значительных изменений спектра поглощения, за исключением 3,5-диметокси-4-гидроксиацетофенона, при взаимодействии с которым наблюдалось смещение пика Core (около 40%). Таким образом, выделенные препараты белков могут быть использованы для получения данных о структурах и дальнейшего исследования их каталитических свойств.

*Работа выполнена в рамках проекта «Разработка рекомбинантного штамма на основе *Pseudomonas putida* PCL1760 для биокаталитической трансформации ароматических производных лигнина», финансируемого Министерством Науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-254 от 17.06.2022 г.).*

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ CAR-T КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ В КОМБИНАЦИИ С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ APR-246, JC36

А. Х. Валиуллина, Э. М. Гилязова, Е. А. Змиевская, Э. Р. Булатов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
aigul1692@mail.ru

Ген TP53 мутирован более чем в 50% случаев онкологических заболеваний, хотя нарушения его работы может встречаться еще в большем количестве случаев. Мутации TP53 диагностируются в меньшем количестве случаев при гематологических заболеваниях, по сравнению с солидными опухолями, но их частота увеличивается по мере прогрессирования заболевания, вызывая побочные эффекты, такие как устойчивость к химиотерапии. Решением данной проблемы может служить комбинация низкомолекулярных соединений APR-246 (Prima-1^{MET}), JC36 (производное (1H-приррол-1-ил)индазола) с перспективной на сегодняшний день CAR-T клеточной терапией.

На первом этапе методом лентивирусной трансдукции были получены клеточные линии солидных опухолей с различным статусом p53: MCF7p53^{wt}, MCF7p53^{Y220C}, MCF7p53^{-/-}, Nuh7p53^{Y220C} несущие CD19 антиген. Далее методом МТТ-теста была определена концентрация полумаксимального ингибирования соединений APR-246, JC36 на полученных клеточных линиях MCF7p53^{wt} (CD19+), MCF7p53^{Y220C}(CD19+), MCF7p53^{-/-}(CD19+), Nuh7p53^{Y220C}(CD19+). Методом проточной цитометрии определили изменение уровня CD19 в клеточных линиях солидных опухолей с различным статусом p53.

Методом проточной цитометрии определили эффективность трансдукции клеточной линии MCF7 p53^{wt} лентивирусом, кодирующим антиген CD19, которая составила 90,2%, клеточной линии MCF7 p53^{-/-} – составила 83,8%, клеточной линии MCF7 p53^{Y220C} – составила 96,7%, клеточной линии Nuh7 p53^{Y220C} – составила 94,4%. Концентрация полумаксимального ингибирования исследуемых клеточных линий под действием вещества APR-246 составила от 8,1 до 39,5 мкМ, под действием вещества JC36 – от 40 до 81 мкМ. Оценка изменения поверхностного уровня CD19 лиганда методом проточной цитометрии не выявила значительного изменения его уровня.

Полученные данные полумаксимального ингибирования в дальнейшем помогут подобрать необходимую концентрацию низкомолекулярных соединений для комбинации с CAR-T клеточной терапией. А полученные клеточные линии будут служить моделью для оценки эффективности CAR-T клеточной терапии в комбинации с низкомолекулярными соединениями APR-246 (Prima-1 MET), JC36.

Работа выполнена за счет средств гранта РНФ 22-74-10076.

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ВАРИАЦИИ СИСТЕМНОЙ ОБЩЕОРГАНИЗМЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

А. В. Варфоломеева^{1, 2}, А. Г. Тищенко^{1, 2}, Ю. И. Александров^{1, 2}

¹Государственный академический университет гуманитарных наук, 119049, Москва, пер. Мароновский, 26;

varflany@gmail.com

²ФГУБН Институт Психологии РАН, 129366, Москва, ул. Ярославская, 13к1

Результаты, полученные в исследованиях научения, свидетельствуют в пользу того, что изучаемые популяции представлены группами индивидов, различающихся по характеристикам этого процесса. Указанная вариативность является неотъемлемым свойством научения; принятие ее во внимание необходимо и предписывает объяснение рассогласования, инициирующего формирование опыта, как разрешение неравновесного состояния. Представляется, что введенная В.Б. Швырковым в рамках системно-эволюционного подхода (СЭП) схема «геном↔мозг↔тело↔среда» позволяет учитывать эту вариативность. В схеме зафиксировано правило, в соответствии с которым организация составляющих организма в функциональную систему для достижения приспособительного результата осуществляется через экспрессию генов, сопряженную с рассогласованием метаболических потребностей нейронов и обеспечивающую возможность их поведенческой специализации. Хотя правило этой организации является общим, оно предполагает вариативность, ввиду представленности в популяциях разных генотипов и нейросубстратов, – что обосновывается в системно-селекционной теории научения нелинейностью реализации генетической программы, предполагающей множественность сценариев взаимосогласования метаболических потребностей нейронов и, следовательно, множественность альтернатив выхода индивида из ситуации рассогласования, т.е. вариативность научения.

Итоговое разбиение выборки (N = 78; Med = 19 лет) оказалось представлено 11 группами так, что базовым общетелесным процессам, результаты которых фиксируются в показателях состава тела (общая масса, костная, мышечная и жировая масса, индексы висцерального жира и массы тела), соответствуют различающиеся показатели времени и правильности решения, количества и типов аргументов (решение сложных когнитивных задач («Рыцари и лжецы», «Моральные дилеммы»), а также внимательности, наблюдательности, сомнения («Шкала аналитичность-холистичность»), тест «Стандартные прогрессивные матрицы Дж. Равена»). Полученный результат позволяет утверждать, что соотношение телесных характеристик с поведенческими и психологическими многовариантно и характеризует различные варианты правила организации общеорганизменных функциональных систем, в частности альтернативы создания, формирования и фиксации на субстрате групп специализированных нейронов моделей совершенных индивидом взаимодействий.

В исследованиях, посвященных разработке проблемы вариативности, приведены лишь обобщенные описания соматотипов (напр., Э. Кречмер и У. Шелдон) без обращения к процессам организации, взаимодействия и развития. Положения СЭП позволяют связывать особенности формирования опыта с их проявлениями в характеристиках как межиндивидуальных взаимодействий, так и общетелесных процессов, что открывает возможность формулировки более полного решения этой проблемы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-18-00473, <https://rscf.ru/project/23-18-00473/>

**ЦЕЛЕВАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА
ФОРМИРОВАНИЕ ISR-ПРАЙМИНГА, В ГЕНОМЕ *BACILLUS SUBTILIS*
Ю. А. Васильева, А. И. Гильмутдинова, Д. И. Хасанов, Ю. В. Данилова, Н. Л. Рудакова, М.
Р. Шарипова**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
vasileva891@mail.ru

В условиях воздействия различных негативных факторов, таких как биотические и абиотические, PGPR-бактерии (ризобактерии, стимулирующие рост растений) играют важную роль в поддержании жизнеспособности, развитии и урожайности растений. Этот положительный эффект достигается за счет выработки ряда веществ, включая ферменты, вторичные метаболиты, фитогормоны и другие соединения. Ризобактерии также участвуют в формировании устойчивого защитного механизма растений, называемого индуцированной системной резистентностью (ISR). Среди бактерий PGPR род *Bacillus* является одним из наиболее перспективных кандидатов в качестве биологических средств защиты растений. Благодаря своим способностям образовывать споры и биопленки, ферменты, липопептиды (включая сурфактин) и сидерофоры, бациллы адаптируются к условиям почвы и успешно соперничают с фитопатогенами. При этом антимикробный эффект сидерофоров увеличивается в сочетании с липопептидами и литическими энзимами. Представленные соединения могут оказывать влияние на активацию ISR у растений, однако их роль до конца еще не изучена.

Актуальность исследования обусловлена изучением малоизученного механизма формирования системной устойчивости (ISR) у растений вызванного представителями рода *Bacillus* с применением технологии CRISPR/Cas9 для определения роли ключевых молекул в данном процессе.

Целью данного исследования является получение мутантных штаммов рода *Bacillus* по генам-кандидатам, ответственных за формирование ISR-прайминга. В работе использовался шаттл-вектор pJOE9282.1, содержащий систему CRISPR/Cas9. Путем гибридизации праймеров были получены спейсерные фрагменты (sgRNA), которые интегрировали по сайту рестрикции *Bsa*I. Фрагменты генов сурфактина и сидерофора были амплифицированы с геномной ДНК *B. subtilis sp.* и встроены в плазмиды по сайту *Sfi*I. Полученные конструкции pVYs07.23 и pGAb07.23, содержащие систему CRISPR/Cas9, sgRNA и фрагменты генов, трансформировали в клетки *B. subtilis sp.* методом химической трансформации. Наличие плазмид с CRISPR/Cas9 системой подтверждали ПЦР-анализом. Целевую инактивацию генов сурфактина (*srfABC*) и сидерофора (*dhbF*) проводили с помощью плазмид pVYs07.23 и pGAb07.23. Таким образом, нами были получены мутантные штаммы *B. subtilis sp. ΔdhbF*, *B. subtilis sp. ΔsrfABC* и *B. subtilis sp. ΔdhbF, ΔsrfABC*. В дальнейшем планируется провести описание физиологических свойств полученных мутантных штаммов.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (приоритет 2030).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КАЧЕСТВА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА ЧЕЛОВЕКА

Е. А. Васильчикова^{1, 2}, П. С. Ермакова¹, А. Ю. Богомолова¹, Д. М. Кучин^{1, 3}, В. Е. Загайнов^{1, 4}, А. В. Кашина^{1, 2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

sciurusub@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³ГБУЗ НОКБ им. Н.А. Семашко, 603093, Нижний Новгород, ул. Родионова, 190

⁴ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», 603126, Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1

Инсулин-дефицитные состояния включают СД 1 типа и панкреатогенный сахарный диабет. С каждым годом количество пациентов с дефицитом инсулина увеличивается. Для лечения инсулин-дефицитных состояний на данный момент существует 3 варианта трансплантационных технологий, включая активно применяемую трансплантацию островков Лангерганса (ОЛ). Хотя трансплантация островков поджелудочной железы является многообещающим и безопасным методом лечения пациентов с дефицитом инсулина, многие вопросы еще предстоит решить. Например, все еще трудно получить достаточное количество островков из поджелудочной железы одного донора. Кроме того, изменчивость условий, связанных с донорами и самой тканью поджелудочной железы, также затрудняет последовательную успешную изоляцию островков.

Таким образом, целью нашей работы является сравнительный анализ эффективности выделения ОЛ из резекционных образцов поджелудочных желез пациентов с различными патологиями.

Для выделения ОЛ использовали резекционные образцы поджелудочных желез человека (n = 20). К фрагментированной панкреатической ткани добавляли коллагеназу и инкубировали в орбитальном шейкере при 37°C. Очистку островков проводили в 2 этапа, где на первом использовали фильтрацию через металлическое сито с диаметром ячеек 0,5 мм, центрифугировали при 300 g и отбирали надосадок, а на втором этапе разделяли эндокринную и экзокринную ткань в градиенте плотности Ficoll. Выделенные островки ОЛ культивировали в модифицированной культуральной среде CMRL при температуре 37°C и 5% CO². Для определения количества ОЛ и степени чистоты препарата проводили окрашивание дитизином. Оценку жизнеспособности проводили с помощью окрашивания набором Life/Dead.

Была подобрана и апробирована методика получения островков Лангерганса из резекционных образцов поджелудочных желез человека, а также определена корреляция эффективности выделения от первоначального качества поджелудочной железы. Чистота итогового препарата составляет от 50% до 80%. Жизнеспособность выделенных островков Лангерганса равна 97% на 1 день после выделения, однако сильно снижается к 3 дню до 75%.

Был разработан и апробирован протокол выделения островков Лангерганса из резекционных образцов поджелудочных желез человека с использованием ферментативного расщепления. Проведено сравнение выхода, чистоты и жизнеспособности препарата, полученного из образцов различного качества после выделения и на протяжении трех дней культивирования.

Работа выполнена в рамках Государственного задания по теме «Технология компенсации инсулинодефицита аутологичными островками Лангерганса у больных с новообразованиями поджелудочной железы после радикального хирургического лечения».

СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА, ЛИПИДНЫХ ФРАКЦИЙ В МЕМБРАНАХ ЭРИТРОЦИТОВ И КОРТИЗОЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19

С. В. Вахрушева

Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1/1;
sofya.v.v@yandex.ru

Во многих исследованиях отмечается, что на фоне отрицательных результатов тестов на COVID-19 воспалительные процессы и метаболические нарушения сохраняются в течение длительного времени. Поэтому крайне важно найти биохимические маркеры, отражающие постковидный синдром. Воспалительные процессы различной этиологии связаны с активацией перекисного окисления липидов, что может приводить к нарушению важнейших свойств и функций клеточных мембран. Изменения концентрации МДА и липидов мембран эритроцитов могут быть маркерами этих процессов. Воспаление также может приводить к повышению уровня кортизола. В связи с этим целью исследования являлось изучение концентрации МДА, содержания липидных фракций в мембранах эритроцитов и концентрации кортизола в плазме крови переболевших COVID-19 и в группе условно здоровых людей.

Контрольную группу составили 13 условно здоровых людей. Экспериментальную группу составили 31 человек, переболевшие COVID-19 за 4 месяца до начала исследования. Оценку концентрации МДА проводили фотоэлектроколориметрическим методом. Липидные фракции определялись методом тонкослойной хроматографии, их площадь измерялась в программе Image Pro Insight, по полученным результатам рассчитывалось процентное содержание фракций. Концентрация кортизола определялась иммуноферментным анализом. Была проведена стандартная статистическая обработка результатов в программе STATISTICA10. В дальнейшем все результаты были подвергнуты древовидной кластеризации (Joining (tree clustering)).

Кластеризация данных позволила выделить две исследуемые группы. В первой группе выявлены схожие с острой фазой заболевания высокие концентрации МДА по сравнению с контрольной группой. В то же время наблюдаются достоверно высокие концентрации кортизола, низкое содержания фосфолипидов и увеличение содержания жирных кислот. Это указывает на сохранение признаков, характерных острой фазе заболевания и воспаления. Во второй же группе уровень МДА находится на нижней границе нормы, концентрация кортизола входит в пределы физиологической нормы, а содержание фракций липидов практически не отличаются от значений контрольной группы, что может указывать на выздоровление данной группы.

Таким образом, исследование показало, что группа переболевших COVID-19 неоднородная. И можно предположить, что наиболее чувствительными и информативными показателями являются концентрации МДА и кортизола, фракции ФЛ и НЭЖК.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ РЕАССОРТАНТНЫХ *ROTAVIRUS A* ГЕНОТИПА G3P[8]

Е. И. Великжанина^{1, 2}, Т. А. Сашина¹, О. В. Морозова¹, А. Ю. Кашиников¹, Н. В. Епифанова¹, Н. А. Новикова¹, А. Е. Алексеева¹

¹Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

www.e_velikzhanina@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Ротавирус А (РВА, род *Rotavirus*, сем. *Sedoreoviridae*) широко распространен во всем мире. С 2013 года в разных странах участились случаи выявления двойных межгрупповых реассортантных ротавирусов с генотипом G3P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2. В Нижнем Новгороде подобные штаммы были впервые обнаружены в 2017 году. В последующие пять лет было зарегистрировано увеличение доли реассортантных G3P[8] до 53% (2021-2022 гг.). Актуальность данных штаммов подчеркивает необходимость их дальнейшего изучения и наблюдения за их эволюцией в локальных популяциях.

Цель работы: молекулярно-генетическая характеристика реассортантных штаммов РВА генотипа G3P[8] на основе всех сегментов генома.

В работе использовали образцы стула детей, госпитализированных с диагнозом ОКИ в детский инфекционный стационар Нижнего Новгорода в период 2021-2023 гг. G/P-генотипирование выполняли методом мультиплексной ПЦР. Нуклеотидные последовательности РВА определяли на приборах Нанофор 05 (Синтол, Россия) и MiSeq (Illumina, США). Для каждого из 11 генов отобранных штаммов был секвенирован фрагмент кДНК длиной 590-1566 п.н. С помощью BLAST-анализа выполняли поиск родственных последовательностей. Филогенетический анализ проводили в программе MEGA X.

Долевой вклад РВА генотипа G3P[8] на территории Нижнего Новгорода в 2021-2022 гг. достиг 68,7%, вытеснив доминировавшие ранее штаммы генотипа G9P[8]. В 2022-2023 гг. он составил 86,1%. Для 83,8% штаммов генотипа G3P[8] методом РНК-ПААГ был установлен нехарактерный для Wa-подобной геногруппы, короткий, профиль миграции сегментов генома, что говорит об их реассортантном происхождении. Для 11 штаммов определен полный генотип: G3P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2. Для каждого гена показано наличие одного или двух внутритиповых вариантов. По сравнению с ранее выявленными (2017-2018 гг.) реассортантными РВА генотипа G3P[8] все исследуемые штаммы разделили варианты только трех генов (VP7, NSP4, NSP5). У части штаммов отмечены общие с ними варианты генов VP3, VP4, NSP1-NSP3. По генам VP1, VP2, VP6 и частично VP3, VP4, NSP1-NSP3 исследуемые штаммы имели общие варианты с нижегородскими штаммами генотипа G2P[4]. Такие аллели генов отмечены у реассортантных РВ генотипа G3P[8] из Нижнего Новгорода впервые.

Таким образом, в течение пяти лет циркуляции в Нижнем Новгороде реассортантные ротавирусы генотипа G3P[8], которые были изначально привнесены на территорию России, приобрели от локальных штаммов генотипа G2P[4] новые варианты 8 генов (VP1-VP4, VP6, NSP1-NSP3).

ПИЩЕВОД КАК ЭКСТРАКАРДИАЛЬНАЯ ПРИЧИНА АРИТМИИ. РАЗБОР КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

Х. А. Вера Бермео¹, М. Б. Сухова^{1,2}, М. В. Аболенская², Е. А. Рузанова², Д. С. Поляков¹, М. Я. Беликова¹, Н. Н. Пасечник³, Н. Б. Рождественская⁴, М. С. Богданов⁴

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

jorgeandresveravera@gmail.com

²НИИ ГБУЗ НО «СККБ им. акад. Б.А. Королёва», 603950, Нижний Новгород, ул. Ванеева, 209

³ФГКУ «422 Военный госпиталь» МО РФ, 603105, Нижний Новгород, ул. Ижорская, 25

⁴ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница», 603136, Нижний Новгород, ул. Ванеева, 211

Показания к использованию томографических методов в кардиологии ежегодно расширяются. Уже сейчас класс доказательности МР исследования сердца в случае нарушения ритма имеет класс доказательности 1С (ESC, 2022).

Цель. Описать клиничко-диагностический случай впервые выявленной «случайной» находки патологии пищевода, ставшей основной причиной аритмологических нарушений у пациентки молодого возраста.

Материалы и методы. Пациентка К., 18 лет, самостоятельно обратилась в клинику для проведения МРТ сердца в амбулаторных условиях, по поводу дискомфорта в области сердца и впервые выявленными нарушениями ритма по данным суточного ЭКГ-мониторирования по Холтеру (регистрировались моноформные аберрантные наджелудочковые экстрасистолы до 137; полиморфные желудочковые экстрасистолы до 2092 в сутки с эпизодами пробежки желудочковой тахикардии). До момента обращения в отделение МРТ пациентка в медицинских учреждениях регулярно не наблюдалась.

Результат. По результатам МРТ исследования выявлена недостаточность митрального клапана 1 степени (площадь регургитации 14%) с сохранением систолической и сократительной функций сердца, без дилатации полостей. Кроме этого, на уровне зоны сканирования определялась резкая дилатация верхней и средней трети пищевода до 4 см в диаметре при отсутствии пищевого комка с резким конусовидным сужением по типу «мышинного хвостика» в дистальной трети. Патологии пищевода благоприятствовала активному дополнительному пульсационному воздействию на заднюю стенку сердца, что несомненно являлось фактором дополнительной аритмогенной провокации. На следующем этапе пациентка была комплексно рентгенологически дообследована с использованием метода рентгеноскопии, который подтвердил функциональную значимость выявленной патологии пищевода. Методом КТ исключена коронарная и другая сосудистая патология сердца и магистральных сосудов средостения и верхней трети брюшной полости. По результатам обследования и консультации абдоминального и торакального хирургов, методом выбора лечения в данном случае стала хирургическая коррекция выявленной патологии пищевода.

Вывод. Комплексное обследование пациентов кардиологического профиля с нарушениями ритма с использованием возможностей МР и КТ-диагностики могут стать основными для выявления и постановки диагноза, качественно влияя на тактику и прогноз лечения, что наглядно продемонстрировал представленный клиничко-диагностический случай.

ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ И ЛАКТАТА В КРОВИ ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ПЧЕЛИНОГО ЯДА И ГИПЕРТЕРМИИ

М. М. Ветошкина, Д. С. Петров

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
maritch.vetoshkina@yandex.ru

Проблема борьбы со злокачественными новообразованиями является одной из наиболее актуальных проблем в медицине и биологии.

Известно, что гипертермия губительно влияет на рост и развитие раковых опухолей, а пчелиный яд повышает устойчивость к гипертермии. В связи с этим представляется интерес изучения адаптационных реакций при терапии онкологических заболеваний.

Учитывая, что наиболее важным интегративным показателем метаболизма при температурных стрессах имеет система крови, наиболее полно отражающая состояние и характер метаболизма всего организма, важно установить динамику её изменения в данных условиях.

Цель работы: Изучить изменения концентрации глюкозы и лактата в крови животных-опухоленосителей на фоне совместного действия пчелиного яда и гипертермии.

Задачи исследования:

1. Изучить влияние пчелиного яда на изменения концентрации глюкозы и лактата в крови
2. Изучить влияние гипертермии (при температурных экспозициях 42°C, 43°C, 44°C) на изменения концентрации глюкозы и лактата в крови.
3. Изучить совместное влияние пчелиного яда и гипертермии (при температурных экспозициях 42°C, 43°C, 44°C) на изменения концентрации глюкозы и лактата в крови.

Известно, что опухолевые клетки обладают высокой скоростью метаболизма и потребляют большое количество глюкозы для подпитки своего роста. Гиперпролиферация раковых клеток и гипоксия, связанная с отсутствием эффективного сосудистого русла, заставляют их жить в условиях гликолитического энергометаболизма. В таких условиях опухолевые клетки могут метаболизировать больше глюкозы в лактат в течение определенного времени, чем нормальные ткани.

Было зарегистрировано увеличение содержания глюкозы во всех опытных группах, при экспозиции 42°C. Менее выраженная динамика роста была в группах 43°C и 44°C по отношению к интактной группе животных. Что может свидетельствовать о губительном действии гипертермии и пчелиного яда на раковые клетки.

Наиболее значимое увеличение содержания лактата было зарегистрировано во всех опытных группах на 7-е сутки, (при температурных экспозициях 42°C, 43°C, 44°C), что может свидетельствовать об интенсивности развития опухолевого процесса, но на 14-е и 28-е сутки значение показателей приближается к значениям интактной группы.

Между глюкозой и лактатом существует очень тесная зависимость, которая не слабеет при развитии опухолевого процесса. Гипертермия и пчелиный яд, действуя на различные мишени, могут обеспечивать повышение противоопухолевого эффекта. Анализ направленности изменения глюкозы и лактата в крови животных-опухоленосителей после терапии представлен большей противоопухолевой активностью пчелиного яда, быстрее восстанавливает содержание глюкозы и лактата в крови больных животных в течение месяца.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ АБК-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С «РЕАКЦИЕЙ НА ОБЕЗВОЖИВАНИЕ», ПРИ ВЫСУШИВАНИИ И РЕГИДРАТАЦИИ ЗАРОДЫШЕВЫХ ОСЕЙ У ЮВЕНИЛЬНЫХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)

П. С. Вилис¹, Е. А. Крылова^{1, 2}, Е. К. Хлесткина², С. С. Медведев¹, Г. Н. Смоликова¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9; st096352@student.spbu.ru

²Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, 190031, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

На ранних этапах прорастания семена могут быть высушены без потери жизнеспособности и возобновляют метаболические процессы при регидратации. При этом хорошо известно, что приобретение устойчивости к обезвоживанию происходит на поздних стадиях формирования семян и находится под контролем абсцизовой кислоты (АБК). Начальные этапы развития растений характеризуются потерей устойчивости к обезвоживанию, которая свойственна семенам. Проведенный нами транскрипционный анализ показал, что при переходе от семени к проростку в зародышевых осях гороха происходит репрессия АБК-зависимых генов, связанных с «реакцией на обезвоживание» (согласно терминологии Gene Ontology). В данной работе мы провели анализ экспрессии генов PsABI3, PsABI4, PsABI5; PsHVA22, PsPER1, PsLTI65, PsLTP4, PsLEA14, PsRD22.

Объектом исследования являлись ювенильные проростки *P. sativum* сорта Прима. Семена проращивали трое суток, далее проростки с длиной корня до 20 мм высушивали 1 сутки (с семядолями и без семядолей), и далее регидратировали еще 1 сутки. После высушивания и регидратации без семядолей зародышевые оси некоторое время сохраняли жизнеспособность, однако далее погибали, что, вероятно, связано с нарушением питания. Однако зародышевые оси, высушенные и регидратированные с семядолями, выживали и возобновляли ростовые процессы. Интересно, что у формирующихся из них проростков первичный корень далее отмирал, а вместо него на гипокотиле появлялись придаточные корни.

Тотальную РНК выделяли из корней и гипокотилей проростков с использованием RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN), с последующей обработкой ДНКазой набором RNase-free DNase set (QIAGEN). По матрице РНК синтезировали одноцепочечную кДНК. Количественную ПЦР проводили с использованием набора SYNTOL SYBR Green I+ROX (Syntol) на приборе CFX-96 (BioRad). В качестве референсного использовали ген, кодирующий фосфопротеин фосфатазу 2А.

Установлено, что высушивание и регидратация зародышевых осей активировало АБК-зависимые гены устойчивости к обезвоживанию, которые обычно блокируются в момент перехода от стадии семени к стадии проростка. В корнях наблюдалась активация экспрессии генов PsABI3, PsABI4, PsPER1, PsHVA22, PsLTI65, PsLTP4 и PsRD22-3, в гипокотиле – PsABI5, PsPER1 и PsLTI65. Полученные данные указывают на то, что на ювенильной стадии развития проростков в структурах, развивающихся из зародышевых осей (корни, гипокотили), возможна реактивация генетической программы устойчивости к обезвоживанию, свойственной семенам. Полученные результаты представляют интерес для выявления подходов к повышению засухоустойчивости формирующихся растений.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 20-16-00086 с использованием оборудования РЦ Научного парка СПбГУ «Развитие клеточных и молекулярных технологий» и «Криогенный отдел».

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ЭНДОГЕННЫХ РЕТРОВИРУСОВ СЕМЕЙСТВА HERV-K HML-10 У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ И В НОРМАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

В. Б. Виниченко

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29;
Vinichenko.nika@yandex.ru

Ожирение представляет собой глобальную проблему общественного здоровья, требующую более глубокого понимания молекулярных механизмов, лежащих в её основе. В данной работе акцент сделан на анализе экспрессии последовательностей ретровирусов подсемейства HERV-K (HML-10) в жировой ткани пациентов в рамках гипотезы о том, что ретровирусы являются маркерами ожирения. Также был осуществлён филогенетический анализ этого семейства.

В исследовании проведен *in silico* анализ уровня экспрессии гена HERV-K (HML-10) у пациентов с ожирением и в нормальной жировой ткани. Используя открытый источник HERVd, были извлечены координаты последовательностей ретровирусов HERV-K (HML10). Для анализа экспрессии применяли программы STAR и HTSeq. На следующем этапе исследования был использован ENA Browser для дополнительного анализа, с целью выяснения связи между процессом ожирения и экспрессией последовательностей этого семейства эндогенных ретровирусов.

Параллельно был проведён филогенетический анализ последовательностей семейства HERV-K (HML-10) с использованием MAFFT, HMMER и MrBayesRBAYES.

В результате работы было установлено, что наиболее ранняя интеграция вирусов семейства произошла не более 25 миллионов лет назад. Ни одна из последовательностей ретровирусов HERV-K (HML-10) не экспрессируется на уровнях, статистически отличимых от уровней экспрессии в нормальных тканях.

Важность данного исследования заключается в более глубоком понимании эволюционной и биологической роли HERV-K (HML-10) в геноме человека. Однако, следует отметить, что исследования могут быть ограничены объемом выборки транскриптомных данных пациентов. Дополнительные клинические и молекулярные исследования могут более полно раскрыть влияние эндогенных ретровирусов на патогенез ожирения и связанных с ним процессов.

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ МАТЕРИАЛА-НОСИТЕЛЯ НА МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ПРИ ДВУХСТАДИЙНОМ АНАЭРОБНОМ СБРАЖИВАНИИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ, ПРЕДОБРАБОТАННОЙ В АППАРАТЕ ВИХРЕВОГО СЛОЯ

А. Н. Виноградова¹, С. В. Шехурдина^{1, 2}, Э. Р. Михеева¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vinogradusha@yandex.ru

²ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, просп. Ленинский,
33

Стимуляция процесса анаэробного сбраживания (АС) является одной из актуальных задач научного сообщества. В литературе с каждым годом увеличивается количество работ по исследованию различных методов стимуляции АС. Данное исследование направлено на изучение одновременного комплексного влияния двух факторов (предобработка субстрата в аппарате вихревого слоя (АВС) и использование иммобилизующих веществ двух типов: полиуретановая губка (ПП) и угольный войлок (УВ)) на видовое разнообразие кислотогенного и метаногенных реакторов при двухступенчатом АС молочной сыворотки (МС) в термофильных условиях (56±1)°С. Результат секвенирования показали, что в кислотогенном реакторе (РН) с ПП в свободноплавающем состоянии доминировали виды *Streptococcus*, *Thermoanaerobacterium* и *Pseudomonas*, в значительной степени присутствовал род *Lactobacillus* и в минорных количествах рода *Ruminococcus* и *Caproiciproducens*. При темновом сбраживании МС после обработки в АВС (МС-АВС) среди планктонных форм обнаружено высокое содержание рода *Bifidobacterium*, численность *Lactococcus* и *Streptococcus* значительно повышалась, в то время как количество *Lactobacillus*, *Thermoanaerobacterium*, *Caproiciproducens*, *Clostridium sensu stricto* 12, напротив, снизилась. Среди иммобилизованных на ПП сообществ микроорганизмов в реакторе, сбраживающем МС, доминирующие виды сохранились, а в минорную группу добавились *Clostridium sensu stricto* 7, *Clostridium sensu stricto* 10 и *Thermobrachium*. Для реактора, сбраживающего МС-АВС на ПП губке наиболее многочисленными были представители родов *Lactobacillus*, *Thermoanaerobacterium*, *Caproiciproducens*, *Clostridium sensu stricto* 12 и семейства *Veillonellales-Selenomonadales*. Представители *Streptococcus*, *Lactococcus* и *Klebsiella* были обнаружены в минорных количествах. Единственным представителем архейного сообщества для метаногенных реакторов, с МС и МС-АВС, был гидрогенотрофный метаноген *Methanothermobacter*, численность которого менялась для свободноплавающих и иммобилизованных форм. *Methanothermobacter* содержались в минорных количествах в планктонной форме, тогда как в иммобилизованной на ПП и УВ их численность доминировала при АС МС. Однако в реакторе с МС-АВС и УВ численность микроорганизмов данного рода была выше. *Methanobacterium* и *Methanosaeta* не было отмечено для планктонных форм при АС МС и МС-АВС, однако для прикрепленных форм, сбраживающих МС-АВС, они представляли минорную группу для всех реакторов. Таким образом, исследования показали, что удержание микроорганизмов в реакторах с помощью иммобилизующего носителя потенциально может повысить их производительность за счет увеличения количества метаногенов, создания благоприятных условий для синтрофного разложения и стимуляции водородогенеза за счет предобработки субстрата в АВС.

Работа поддержана грантом РНФ №21-79-10153.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЛЕНИЯ И ЗАЩИТЫ ОТ СТРЕССА В КЛЕТКАХ МИКОПЛАЗМ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ

И. Е. Вишняков¹, А. А. Усатых¹, Л. С. Чернова², М. С. Фёдорова², А. Р. Каюмов², А. Д. Ведяйкин³

¹Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, просп. Тихорецкий, 4;
andrew.usatih@yandex.ru

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

³НИК «Нанобиотехнологии», Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

Микоплазмы являются самыми маленькими из известных микроорганизмов, способных расти на искусственных питательных средах. Их рассматривают в качестве естественной модели «минимальной клетки» и считают, что они сохранили самые важные метаболические пути и механизмы, обеспечивающие функционирование живой клетки. Исследование таких механизмов представляет как фундаментальный, так и практический интерес. Микоплазмы являются весьма успешными патогенами человека, животных, насекомых и растений, их элиминация затруднительна в силу уникальности их строения и функциональных особенностей метаболизма. Кроме того, они являются одними из самых частых контаминантов клеточных культур, используемых как для научных исследований, так и для медицинских и биотехнологических разработок.

В течение ряда лет в нашей лаборатории ведутся исследования механизмов, обеспечивающих размножение микоплазм и защиту их клеток от стресса. В данной работе мы продемонстрировали взаимосвязь между ключевым белком бактериального деления FtsZ и малым белком теплового шока (мБТШ) IbrA в клетке микоплазмы *Acholeplasma laidlawii*. Фундаментальная значимость данной работы заключается в том, что даже очень далёкие гомологи эукариотических белков (гомологи мБТШ и тубулина), как выяснилось, могут вести себя похожим образом и в клетках бактерий. Для решения основной задачи использовали целый набор методов, от классических молекулярно-генетических подходов при конструировании векторов для продукции полноразмерных, усечённых, а также химерных белков, до поверхностного плазмонного резонанса и просвечивающей электронной микроскопии. Взаимодействие белков было также подтверждено ко-иммунопреципитацией и со-осаждением. Кроме того, применяли биохимические подходы и статистический анализ данных.

Было установлено, что малый белок теплового шока способен модулировать клеточное деление *A. laidlawii* в условиях температурного стресса (холодовой и тепловой шок). IbrA, теоретически, может служить потенциальной мишенью для контроля микоплазмозов (фитоплазмозов), так как нарушение его работы должно приводить к сбою в функционировании механизма деления в клетках фитопатогенных микоплазм. Такая реакция может способствовать элиминации патогена из заражённого организма.

Работа была выполнена на средства грантов РФФИ (проекты №20-34-90066 и 20-04-00760).

КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ СТРОМЫ РОГОВИЦЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИЗУЧЕНИИ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА КЕРАТОКОНУСА

В. Е. Власова

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8;
sweethailtoyou@mail.ru

Кератоконус – эктатическое заболевание роговицы дегенеративно-дистрофического характера, приводящее к стойкой утрате зрительных функций у лиц молодого трудоспособного возраста. В качестве возможного этиопатогенетического фактора развития этого заболевания рассматривается минеральный дисметаболизм в тканях роговицы (отсутствие ионов цинка, железа и меди), приводящий к нарушению функций металлозависимых ферментов, деструктивным изменениям в ее строении и утрате ее биомеханической прочности.

В связи с тем, что моделирование кератоконуса не воспроизводимо на животных, весьма актуальной задачей является создание клеточных моделей этого заболевания.

Целью настоящего исследования стала разработка клеточных моделей стромы роговицы для изучения этиопатогенеза кератоконуса *in vitro*.

На первом этапе работы нами была разработана тканеинженерная конструкция, максимально приближенно моделирующая строму нормальной роговицы – полученная из первичной культуры кератоцитов здорового человека, сформированная в виде клеточных пластов без носителя.

На втором этапе работы был разработан способ селективного обеднения питательных ростовых сред ионами цинка, железа и меди – декатионизация фетальной бычьей сыворотки ионообменными смолами, с последующим уточнением концентрации микроэлементов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

На третьем этапе работы мы оценивали возможность и особенности роста тканеинженерных конструкций, моделирующих строму роговицы, на обедненных ионами цинка, железа и меди питательных средах на протяжении четырех недель культивирования.

Морфологическую структуру полученных моделей стромы роговицы (нормальной и трех «кератоконусных») оценивали методом световой микроскопии. По сравнению с моделью нормальной роговицы «кератоконусная» модель в отсутствие ионов цинка в ростовой среде, характеризовалась меньшей толщиной клеточного пласта, менее компактными клеточными ядрами и более выраженной долей экстраклеточной фракции. «Кератоконусная» модель в отсутствие ионов меди – меньшей толщиной клеточного пласта и нарушением адгезивных свойств, «кератоконусная» модель в отсутствие ионов железа – признаками апоптоза с гибелью культуры на 7-10 сутки культивирования.

Нарушение метаболизма ионов металлов играет этиопатогенетическую роль в развитии ряда дегенеративно-дистрофических заболеваний соединительно-тканых структур и органов. Полученные по результатам настоящего исследования данные подтверждают современную концепцию этиопатогенеза кератоконуса, согласно которой обеднение тканей роговицы ионами металлов может быть первопричиной нарушения ее биомеханических свойств.

РАЗРАБОТКА ВЕКТОРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА БАЦИЛЛИБАКТИНА В ГЕНОМЕ *BACILLUS PUMILUS* 3-19 МЕТОДОМ CRISPR/CAS9

Е. С. Волкова

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

В последние годы ведётся активное изучение *Bacillus pumilus*, как важного стимулятора роста растений. Значимой характеристикой *B. pumilus* является способность к синтезу сидерофор. Основная их функция заключается в хелатировании железа в почве и увеличении его доступности для растений. Данный микроэлемент играет роль в жизнедеятельности растений и микроорганизмов. Возможность связывания ионов двухвалентного железа позволяет использования *B. pumilus* в сельском хозяйстве в борьбе с фитопатогенами, снижая для них доступность микроэлементов, а также выведение ионов токсичных металлов для обезвреживания загрязненной почвы. Анализ генома *B. pumilus* 3-19 из коллекции микроорганизмов НИЛ «Агробиоинженерия» КФУ показал наличие гена сидерофора катехолового типа бациллибактина. Для определения роли данного сидерофора при взаимодействии *B. pumilus* 3-19 с растениями необходимо исследовать как целевая инактивация данного гена скажется на микробно-растительных взаимоотношениях.

Цель работы: создание плазмидного вектора для целевой инактивации гена бациллибактина в геноме *B. pumilus* 3-19 с помощью технологии CRISPR/Cas9.

В работе был использован вектор pJOE9282.1, содержащий систему CRISPR/Cas9. Данный вектор содержит ген *cas9* под контролем ксилоза-индуцируемого промотора (P_{xyl}) и два сайта рестрикции для вставки направляющей последовательности (sgRNA) и фланкирующих участков гена-мишени для гомологичной рекомбинации (L,R-участки). Последовательность sgRNA, направляющей *cas9* к гену-мишени, интегрировали в вектор pJOE9282.1 по сайту рестрикции *Bsa*I. L,R-участки гена бациллибактина получили с геномной ДНК *B. pumilus* 3-19 методом ПЦР, после чего встроили по сайту рестрикции *Sfi*I. Наличие вставок sgRNA и фланкирующих последовательностей гена-мишени подтверждали методом ПЦР-анализа и секвенированием.

В результате проделанной работы был получен вектор pVEb11.23 для трансформации в клетки *B. pumilus* 3-19 с целью получения делеционного мутанта с инактивированным геном бациллибактина. После чего полученный штамм будет использован для дальнейших экспериментов по выяснению роли бациллибактина *B. pumilus* 3-19 в микробно-растительных взаимодействиях на *Solanum tuberosum* L. и *Arabidopsis thaliana*.

Работа выполнена при поддержке программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

ВЛИЯНИЕ РЫБЬЕГО ЖИРА НА ИЗМЕНЕНИЕ МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

О. В. Волкова, А. О. Чеботарева, М. А. Шабалин, А. В. Полозова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
voks.9703@mail.ru

Раскрытие механизмов реализации потенциальных возможностей организма в условиях физических нагрузок является одним из ключевых вопросов физиологии. Функциональное состояние организма в условиях двигательной активности зависит от эффективности системы транспорта кислорода, немаловажная часть которого – периферическое звено эритрона. Исследование реакции красной крови на физическую нагрузку позволят понять и проанализировать поэтапное включение различных механизмов, которые будут обеспечивать кислородный запрос организма и проявление способности противостоять механическому, окислительному и осмотическому стрессу.

Цель работы: исследовать влияние рыбьего жира на морфологические показатели эритроцитов крыс и их метаболический статус при моделировании физической нагрузки «до отказа».

Физическую нагрузку моделировали по методике «Вынужденное плавание с грузом» до формирования, выраженного утомления и отказа животных от дальнейшего выполнения исследований. Животным опытной группы перорально вводили рыбий жир (доза 35 мг/кг), контрольным – физраствор. Уровень физиологической нормы определяли по группе интактных животных. В работе исследовали морфометрические показатели эритроцитов методом световой микроскопии, концентрацию АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах определяли по уровню неорганического фосфата. Полученные экспериментальные были обработаны с помощью Microsoft Excel и Statistica 6.0.

При физических нагрузках без использования рыбьего жира регистрировали уменьшение диаметра эритроцитов, количества патологически-изменённых форм красной крови, что сочеталось со снижением концентрации АТФ и 2,3-ДФГ относительно значений интактной группы. Выявленные изменения свидетельствует о снижении активности энергетических процессов в эритроцитах.

При действии рыбьего жира на 7 и 14 сутки после физической нагрузки регистрировали рост концентрации АТФ и постепенное снижение содержания 2,3-ДФГ, а также восстановление диаметра эритроцитов и уменьшение числа патологически-изменённых форм до значений интактной группы к 21 суткам исследования. Анализ полученных данных свидетельствует, что использование рыбьего жира определило усиление гликолиза в эритроцитах с ростом АТФ, сопровождающееся восстановлением морфологических характеристик эритроцитов. Восстановление морфологических и функциональных показателей эритроцитов при действии рыбьего жира в условиях максимальных физических нагрузок можно рассматривать как один из возможных положительных эффектов рыбьего жира, направленный на повышение кислородтранспортной функции крови.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЦИТРАТА НАТРИЯ, СИНТЕЗИРОВАННОГО С ПОМОЩЬЮ ДРОЖЖЕЙ *YARROWIA LIPOLYTICA*, НА ДЕСТРУКЦИЮ БИОПЛЕНОК НА УСТАНОВКАХ ОБРАТНОГО ОСМОСА

***Н. Е. Воробьева*¹, *С. В. Камзолова*²**

¹Пушчинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 3;

nevorobeva@mail.ru

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 5

Промышленные системы очистки воды с использованием мембранного разделения обратным осмосом столкнулись с серьезной проблемой, связанной с образованием биопленки на поверхности корпусов установки и теле мембраны. Исходя из предположения, что образование биопленок происходит по принципу коагуляции, необходим поиск соединений с противоположным эффектом. В качестве антикоагулянта может рассматриваться цитрат натрия. Однако работ в этом направлении до сих пор не проводилось. Кроме того, в России цитрат натрия не производится, а коммерческие зарубежные препараты характеризуются высокой стоимостью.

Целью исследования явилось изучение влияния цитрата натрия, произведенного микробиологическим путем, на деструкцию биопленок в установке обратного осмоса отделения химводоподготовки промышленного производства.

Для деструкции биопленок применяли цитрат натрия, произведенный в ИБФМ РАН микробиологическим путем с использованием дрожжей *Yarrowia lipolytica*, а также реагент цитрат натрия (Китай) и традиционные биоциды (H_2O_2 , HCl, H_2SO_4 , NaOH, NaCl и др.). Цитрат натрия (ИБФМ РАН и Китай) проверен на микробиологическую чистоту. Показано, что оба соединения – стерильные, что гарантирует отсутствие заражения установки нетипичными для данного производства видами микроорганизмов. На первом этапе, биопленки, собранные со стволков обратноосмотической установки, были помещены в пробирки и заливались равными количествами исследуемых растворов разных концентраций. Оценка разрушения проводилась визуально сразу после растворения и через сутки. На втором этапе отобранные наиболее перспективные варианты фильтровали, разбавляли деминерализованной водой и проращивали при 37°C в течение 24 ч. Определение общего микробного числа (ОМЧ) проводили с помощью экспресс-теста «Петритест». Показано, что биопленки после растворения в биоцидах показали рост порядка 10^3 КОЕ/мл, в то время как образцы, растворенные в перекиси водорода и цитрате натрия, роста не дали. Через сутки после растворения наблюдалась значительная деструкция биопленки в растворах H_2O_2 , гипохлорита натрия, NaCl и HCl с концентрацией 10%. Максимальное разрушение биопленок наблюдалось с применением цитрата натрия (ИБФМ РАН и Китай). Кроме того, оба раствора цитрата натрия не только сильно измельчили структуру биопленки, но и расслоили ее на 2 фракции (желеобразный нижний слой и твердый волокончатый верхний слой).

Таким образом, в данной работе впервые показана способность цитрата натрия, произведенного микробиологическим путем с использованием дрожжей, оказывать разрушающее воздействие на образование биопленок в системе водоочистки. Следует отметить, что себестоимость технического цитрата натрия по технологии ИБФМ РАН составляет 450-550\$ за тонну, что ниже в 2 раза по сравнению с аналогичным реагентом из Китая.

ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ СИСТЕМЫ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ *SOLANUM TUBEROSUM* L. ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* 26Д В УСЛОВИЯХ ИНФИЦИРОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕМ ФИТОФТОРОЗА *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

В. Ф. Габдрахманова, А. В. Сорокань, И. В. Максимов

Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, 450054, Уфа, просп. Октября, 71;
venera-vinni@bk.ru

Эндофитные бактерии, колонизирующие внутренние ткани растения, способны уменьшать вред, наносимый различными патогенами, в том числе активируя иммунные процессы в растениях, включая РНК-интерференцию (РНКи). РНКи – это механизм подавления экспрессии генов при помощи малых молекул РНК. Важными участниками механизма РНКи являются Dicer-подобные белки (DCL) и белки семейства Аргонавт (AGO). Однако, влияние эндофитных бактерий на механизм РНКи крайне малоизучено. В исследовании использовались стерильные пробирочные растения картофеля сорта Невский и ранее полученная восприимчивая к фитофторозу трансгенная линия asAPO сорта Невский с подавленной экспрессией гена, кодирующего анионную пероксидазу, активирующуюся под воздействием жасмоновой кислоты и возбудителя фитофтороза. Исследование экспрессии генов Dcl1, Ago1 и Ago4 в растениях картофеля проводилось через час, сутки и семь суток после инфицирования оомицетом *P. infestans* 1840.

Инокуляция растений суспензией эндофитных бактерий приводила к снижению проявления симптомов фитофтороза на искусственно инфицированных листьях. Было выявлено двукратное повышение транскрипционной активности гена Dcl1 в растениях линии asAPO и трёхкратное – в растениях дикого типа относительно контрольных показателей через час после инфицирования. Однако, в растениях сорта Невский увеличение транскрипции гена Dcl1 сопровождалось увеличением этого параметра для гена Ago4. Действие эндофитных *B. subtilis* 26Д на растения сорта Невский более чем 10-тикратно увеличивало содержание транскриптов гена Dcl1, и способствовало высокой транскрипционной активности Ago4, чего не наблюдалось в этом варианте для растений линии asAPO. Обработка обоих сортов *B. subtilis* 26Д значительно снижала экспрессию гена Dcl1 через сутки после инфицирования растений картофеля.

Инокуляция спорами *P. infestans* 1840 увеличивала количество транскриптов гена Dcl1 спустя 7 суток после инфицирования, однако в случае сорта Невский это сопровождалось одновременным усилением экспрессии гена Ago1 в условиях обработки *B. subtilis* 26Д. К тому же, в инфицированных растениях линии asAPO было повышено количество транскриптов гена Ago4.

Таким образом, в устойчивости растений сорта Невский к фитофторозу играет роль эпигенетическая регуляция, включающая механизмы РНКи, которая, вероятно, требует зависимого от апопластных пероксидаз окислительного взрыва, чего не происходит в растениях линии asAPO. Эндофитные бактерии *B. subtilis* 26Д также воздействовали на экспрессию генов Dcl1, Ago1 и Ago4 в условиях инфицирования патогеном, но в большей степени – в растениях сорта Невский. Вероятно, снижение степени пораженности фитофторозом растений линии asAPO зависело в большей степени от антибиотических свойств штамма *B. subtilis* 26Д, показанных ранее.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 24-26-00025 «Перспектива применения выделенных на территории Южного Урала эндофитных штаммов бактерий рода Bacillus для повышения устойчивости сельскохозяйственных растений к комплексу биотических факторов среды».

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

Е. А. Гаврилова¹, А. М. Ежкова², В. О. Ежков², Е. В. Никитина³, Д. Р. Яруллина¹, А. Р. Каюмов¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Alalila@yandex.ru

²Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 420061,
Казань, ул. Николая Ершова, 26

³Казанский национальный исследовательский технологический университет, 420015, Казань,
ул. Карла Маркса, 68

Применение кормовых добавок на основе пробиотических препаратов и агроминералов способствует улучшению иммунного статуса животных и птицы, стимуляции роста и развития молодняка и повышению качества получаемой продукции. В качестве пробиотиков в биотехнологии и пищевой промышленности широко применяются лактобациллы.

Целью работы являлась разработка синбиотического препарата на основе новых штаммов лактобактерий и агроминералов (бентонит и цеолит). В работе использовали штаммы: *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, *Lactiplantibacillus plantarum* AG16, *Ligilactobacillus salivarius* LS 4-4, *Lactiplantibacillus plantarum* FCa3L, выделенные из растительного сырья, и штамм *Limosilactobacillus fermentum* HFD1 и из кишечника человека.

После исследования штаммов на антагонистическую активность и сохранение жизнеспособности при добавлении агроминералов провели оценку влияния препарата на перепелов (работа выполнена с одобрения локального этического комитета КФУ, протокол №40 от 9 марта 2023). Опыт проводился в два этапа. В ходе первого эксперимента группы перепелов получали в качестве добавки разные пробиотические штаммы, выращенные в молочной сыворотке. Контрольная группа получала только молочную сыворотку. Во втором эксперименте группы перепелов получали комбинацию пробиотических штаммов, продемонстрировавших высокие показатели в первом опыте, и агроминералов. На протяжении экспериментов птиц взвешивали и оценивали прирост биомассы. По окончании опытов оценили массу различных внутренних органов птиц, показатели биохимического и форменного анализа крови, оценили показатели качества яиц и мяса, состав микробиоты кишечника. В работе проведен сравнительный анализ данных показателей у различных групп птиц.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект РНФ-22-16-00040).

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ХЛОРИНА Е6 С ФРАГМЕНТАМИ ГАЛАКТОЗЫ НА ПЕРИФЕРИИ МАКРОЦИКЛА: ЗАКОНОМЕРНОСТИ «СТРУКТУРА – БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ»

Н. Е. Галочкина¹, Л. Н. Шестакова¹, С. С. Сороко¹, А. О. Белотелов¹, Д. В. Белых², М. В. Мальшакова², И. В. Балалаева¹, Н. Ю. Шилягина¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
natalia.volkova.unn@yandex.ru

²Институт химии Коми Научного центра УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – перспективное направление в лечении онкологических заболеваний, основанное на введении фотосенсибилизатора (ФС) в организм и облучении опухоли светом определенной длины волны. Экспериментальные и клинические исследования различных ФС показали необходимость синтеза соединений с улучшенными свойствами для повышения эффективности ФДТ.

Цель работы – исследование фотофизических и фотобиологических свойств новых производных хлорина е6 как потенциальных противоопухолевых соединений. Данные ФС представляют собой вещества хлориновой природы Хл1-Хл5, различающихся наличием двух или четырех галактозных фрагментов на периферии макроцикла, связанных через короткие или длинные спейсеры.

Для исследуемых соединений показано наличие нескольких полос поглощения, расположенных в коротковолновой (полоса Core) ~ 400 нм и длинноволновой (Q-полоса) ~ 650 нм областях спектра; максимум флуоресценции зарегистрирован на длине волны ~ 665 нм. С использованием химической ловушки 1,3-дифенилизобензофурана для исследуемых производных определены относительные квантовые выходы синглетного кислорода, превышающие значение квантового выхода клинически одобренного препарата Фотодитазин.

Исследование биологических свойств проведено на культурах клеток эпидермоидной карциномы человека А-431 и карциноме толстой кишки СТ-26. Цитотоксичность оценена методом МТТ-теста. Показано, что фотодинамическая активность исследуемых производных хлоринов на несколько порядков превышает их темновую токсичность. Внедрение четырех галактозных фрагментов заметно снижает темновую токсичность, не влияя на фототоксичность. Методом лазерной сканирующей флуоресцентной конфокальной микроскопии показано накопление производных хлоринов в течение 3-4 часов в цитоплазме клеток, везикулах, окооядерных областях (предположительно аппарате Гольджи), а также в цитоплазматической мембране. Исследование механизмов клеточной гибели, проведенное методом проточной цитофлуориметрии, показало наличие клеток, погибающих по пути апоптоза/некроза спустя 12 часов после светового воздействия.

Полученные данные позволяют говорить о перспективности дальнейшего исследования Хл1-Хл5, в том числе на животных-опухоленосителях, с целью выявления соединений лидеров скринингового исследования.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Государственного задания в Научно-исследовательской лаборатории «Химия природных соединений и их синтетических аналогов» НОЦ «Технолатформа 2035». (№FSWR-2024-0002).

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОВЕЗИКУЛ ИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК

И. А. Ганеева¹, Е. А. Змиевская¹, Э. Р. Булатов^{1,2}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, просп. Гагарина, 23;
ganeev.ka@yandex.ru

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Рассеянный склероз (РС) – это хроническое воспалительное заболевание центральной нервной системы аутоиммунной этиологии. Общеизвестной является роль CD4+CD25+hi регуляторных Т-клеток в патогенезе РС, выраженная в частичной утрате их нормальной иммуносупрессивной функции. Регуляторные Т-клетки являются одним из ключевых компонентов патогенеза РС. Они высвобождают внеклеточные везикулы, которые содержат значительное количество белка и РНК, которые регулируют пролиферацию или выживание Т-лимфоцитов. Однако продемонстрировано, что ингибирующий эффект внеклеточных везикул из регуляторных Т-клеток нарушен у пациентов с РС, что является патогенетическим звеном.

Для изучения внеклеточных везикул из регуляторных Т-клеток из периферической крови здорового донора были выделены наивные CD4+ Т-клетки. Далее проводилась активация Т-клеток и их дифференцировка в Т-регуляторные клетки. Из полученных Т-регуляторных клеток через 11 дней были получены микровезикулы тремя методами индукции: естественные, индукция цитохалазином В и ультразвуковая индукция. Полученные везикулы были проанализированы методом проточной цитометрии, сканирующей электронной микроскопии и методом анализа траектории наночастиц.

Во всех трех препаратах методом сканирующей электронной микроскопии были визуализированы шаровидные мембранные структуры (везикулы) различного размера. Наиболее крупные везикулы наблюдались в образце естественных везикул, наиболее мелкие – в образце, полученном ультразвуковой стимуляцией. Важно отметить наличие большого количества органических структур, обнаруженных по всему полю визуализации в естественных везикулах, несмотря на одинаковую пробоподготовку и режим отмывки с другими образцами. Средний размер частиц при анализе составил: для естественных микровезикул – 205±3,1 нм, для микровезикул, полученных стимуляцией цитохалазином В – 175±3,9 нм, для микровезикул, полученных ультразвуковой стимуляцией – 207±5,6 нм. Количественный выход везикул (шт/кл) составил: для естественных везикул – 101,45, для везикул, полученных стимуляцией цитохалазином – 37,6, для везикул, полученных путем ультразвуковой стимуляции – 178,14. Методом проточной цитометрии было показано, что перенос функционально важных молекул (CTLA-4, Tim-3, Lag-3 и PD-1) с поверхности индуцированных Т-регуляторных клеток проходит во всех трех методах стимуляции.

Таким образом, в результате работы несколькими методами были получены и охарактеризованы везикулы из индуцированных Т-регуляторных клеток. Методом проточной цитометрии был подтвержден перенос важных иммуносупрессорных молекул из клеток в везикулы. Кроме того, было показано распределение размеров везикул, полученных тремя различными методами индукции, а также везикулы были визуализированы методом сканирующей электронной микроскопии.

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

РОЛЬ ЭНТОЗА В РОСТЕ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ ОПУХОЛИ

К. А. Гантулбарова^{1, 2}, И. А. Цыденова^{1, 2}, Е. А. Кравцова^{1, 2}, Д. С. Долгашева^{1, 2}, Н. В. Литвяков^{1, 2}

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634009, Томск, пер. Кооперативный, 5;
Xenia.gaptulbarova@yandex.ru

²Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36

Актуальность. Структуры как «cell-in-cell» (CIC) наблюдаются в образцах злокачественных новообразований уже более века. Одним из способов образования CIC служит механизм под названием энтоз. Это процесс, при котором жизнеспособные клетки интернализируются в соседние клетки того же типа, с вовлечением молекул адгезии, формируя те самые структуры CIC.

Материалы и методы. В исследование включены 64 пациента больных колоректальным раком в возрасте от 32 до 88 лет с морфологически верифицированным диагнозом. Для изучения CNA использована микроматрица высокой плотности CytoScan HD Array (Affymetrix, USA). Проводилось гистологическое исследование на предмет наличия и частоты энтоза в срезах. Частота встречаемости энтоза сравнивалась с количеством амплификаций генов стволовости, основными клинико-морфологическими параметрами больных (стадия, размер опухоли, степень дифференцировки, Grade). Статистическая обработка данных проведена с использованием пакетов прикладных программ «Statistica 8» (StatSoft Inc., USA).

Результаты. Нами были проанализированы гистологические препараты от 64 пациентов больных колоректальным раком (КРР) с морфологически верифицированным диагнозом.

Структуры энтотических CIC определяли на срезах, окрашенных Г/Э, с помощью критериев Маккея. Далее мы оценили связь частоты энтотических событий с основными клинико-морфологическими параметрами пациентов: стадией, размером опухоли, степенью дифференцировки и Grade. В результате анализа 64 больных КРР было установлено, что частота энтотических событий практически не связана с клинико-морфологическими параметрами. Статистически значимые результаты были получены только для размера опухоли ($p = 0,03$), указывающие, что частота структур CIC была выше в опухолях T4, в равнении с группой T2-3, соответственно.

Корреляционный анализ 49 больных КРР показал зависимость количества амплификаций генов стволовости от частоты образованных структур CIC. Чем больше энтотических структур было обнаружено в ткани, тем больше наблюдалось амплификаций генов стволовости, коэффициент корреляции Спирмена 0,47 ($p = 0.0006$), которые связаны со способностью опухолевых клеток к метастазированию.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ К НАПРАВЛЕНИЮ ДВИЖЕНИЯ ВИЗУАЛЬНОГО ОБРАЗА С ПОМОЩЬЮ СПАЙКОВОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

К. А. Гарамов¹, С. А. Лобов^{1,2}

¹Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1А;
konstantingaramov@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Искусственные нейронные сети – класс алгоритмов машинного обучения, развивавшийся с опорой на нейробиологические концепции. В современности их сверточные архитектуры, основанные на формальных нейронах, успешно применяются для решения многих прикладных задач, в том числе в области компьютерного зрения, включая обработку видео. Их принцип работы построен на поиске знакомых модели визуальных паттернов в каждом отдельно взятом кадре, что исключает возможность оценки движения целиком без использования сложных рекуррентных связей, значительно увеличивающих требования к вычислительным ресурсам. В то же время, эксперимент Хьюбеля-Визеля с рецептивными полями, ставший вдохновением для сверточных нейронных сетей, не заканчивается лишь на распознавании пространственной ориентации зрительных примитивов – было показано, что некоторые рецептивные поля обладают избирательностью и к направлению движения.

Существует другая разновидность сетей, нейроны которых представляют собой асимметричную по времени функцию активации, копирующую динамику трансмембранных потенциалов живых нейронов – спайковые нейронные сети. Поскольку их активация происходит во времени, мы полагаем, что спайковые нейронные сети могут успешно применяться в задаче распознавания динамических образов. На примере простейших стимулов – движущаяся точка, движущаяся горизонтальная линия и движущаяся наклонная линия – было показано, что сеть, состоящая из нескольких нейронов, принимающих входной сигнал и связанных с одним постсинаптическим нейроном, способна к запоминанию направления движения стимула с помощью пластичности, зависящей от времени возникновения потенциала действия (Spike Timing-Dependent Plasticity). Эта избирательность заключается в активации постсинаптического нейрона при виде знакомого динамического паттерна и отсутствии активности при появлении нового.

ОЦЕНКА ФИТОРЕМЕДИАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА РЯДА РАСТЕНИЙ И АССОЦИИРОВАННЫХ С НИМИ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ ОТ НЕФТЕПРОДУКТОВ

И. В. Герасимова^{1,2}, *Т. А. Жилкина*^{1,2}, *Т. А. Канапацкий*^{1,2}

¹Московский политехнический университет, 107023, Москва, ул. Большая Семёновская, 38; *timofeyka2033@mail.ru*

²ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, просп. Ленинский, 33

В настоящее время происходит увеличение масштабов добычи и транспортировки нефти, что приводит к возрастанию количества ее разливов. Разливы нефти оказывают разрушительное воздействие на все виды экосистем и требуют применения различных методов очистки. Наиболее перспективным и экологичным является метод фиторемедиации, который основан на поглощении и деградации нефтяных углеводородов растениями.

Целью данной работы являлось определение фиторемедиационного потенциала ряда водных растений и ассоциированных с ними микроорганизмов-нефтедеструкторов.

В качестве объектов исследования были взяты растения *Eichhornia crassipes* и *Pistia stratiotes*, которые выращивались в условиях теплицы с 16-часовым фотопериодом. Для каждого вида объектов использовали по 4 емкости – контрольная и опытная группы в двух повторностях. Опытную группу растений помещали в емкости с водой, загрязненной сырой нефтью, а контрольную группу растений выращивали в «чистых» условиях. По истечению двух и четырех недель роста из каждой емкости отбирались пробы воды для проведения анализа.

Убыль n-алканов нефти определяли газохроматографическим методом на хроматографе «Кристалл 5000.1». Количественную расшифровку хроматограмм производили по методу внутренней нормализации. Поверхностное и межфазное натяжение измеряли полустатическим методом отрыва кольца на полуавтоматическом тензиометре Surface Tensiomat 21 (Cole-Parmer, США), снабжённом платино-иридиевым кольцом. Для выявления микробиологического компонента был проведен микроскопический анализ образцов нефти на микроскопе Axio Imager.M2 («Carl Zeiss», Германия).

В результате анализа алкановой фракции нефти не было выявлено потребления нефтяных углеводородов после четырех недель культивирования *E. crassipes* и *P. stratiotes*. Однако, было показано, что в процессе развития растений наблюдалось изменение межфазного натяжения воды, что может быть вызвано выделением поверхностно-активных веществ. Кроме того, в присутствии растений бактерии быстрее проникли в нефтяную фазу, чему, возможно, способствует наличие ПАВ.

Таким образом, растения не оказали прямого влияния на деградацию нефти. Однако их способность выделять ПАВ может быть использована в технологии ремедиации, поскольку позволит деструкторам углеводородов быстрее проникать в нефтяную фазу.

ВЛИЯНИЕ ВЕЛИЧИН ФЕТАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ГЕМОГЛОБИНА НА КОНТРОЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГАЗОВОГО СОСТАВА КРОВИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

И. В. Гераськин¹, А. В. Дерюгина¹, В. А. Гераськин²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ivan_geraskin19@mail.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл.
Минина и Пожарского, 10/1

Важной составляющей проблемы выхаживания недоношенных детей является определение воздействия фетального гемоглобина FНbF на механизм транспорта кислорода кровью у недоношенных новорожденных с очень низкой или экстремально низкой массой тела.

Цель работы – исследование особенностей влияния факторов, функционально связанных с FНbF на возрастные показатели газов крови. Методика исследования основана на анализе клиничко-лабораторных данных историй болезней пациентов неонатального периода с очень низкой и экстремально низкой массой тела. Определение газового состава крови выполнено анализатором ABL800 – BASIC. Показатели фракции фетального гемоглобина FНbF (%) свидетельствуют, что у данной категории пациентов значения HbF находились в интервале до 96% от уровня общего гемоглобина крови – totHb. При определении зависимости значений FНbF и фракции оксигемоглобина FO₂Hb – средние величины HbF (M+m) соответствовали 64,04+7,70 (n = 24), показатели FO₂Hb (M+m) соответствовали 86,9+2,33 (n = 23), p < 0,05. Полученные данные свидетельствуют о влиянии высокого содержания FНbF в структуре гемоглобинов крови на поддержание эффективных величин FO₂Hb у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела.

При анализе зависимости уровней FНbF и насыщения кислородом крови – sO₂ (%), средние величины HbF (M+m) 64,04+7,70 (n = 24) зафиксированы при показателях sO₂ (%) (M+m) 88,8+2,63 (n = 23), p < 0,05. Результаты свидетельствуют о прямой зависимости влияния уровня FНbF крови на формирование функционально значимых величин насыщения кислородом крови – sO₂ (%) в группе недоношенных с экстремально низкой массой тела. Определение связи уровней FO₂Hb и sO₂ не выявил статистически значимого профиля изменения показателей. В исследованиях установлена обратная зависимость FНbF% от концентрации гемоглобина ctHb (г/л) – чем меньше концентрация гемоглобина крови, тем более высокие значения регистрировались у фракции HbF%. Средние величины (M) регистрируемых показателей: HbF (M+m) 64,04+7,70 (n = 24) и ctHb (г/л) (M+m) 9,72+0,40 (n = 24). Уровень средних величин ctHb (г/л) (M+m) 9,72+0,40 – свидетельствовал о наличии гемической гипоксии у пациентов группы обследования с сохранностью показателя HbF% на более высоких значениях. Зафиксированная обратная зависимость показателей вероятно имеет адаптивно-компенсаторное значение. Отмечен ряд публикаций, свидетельствующий о возрастании уровня фетального гемоглобина при заболеваниях у пациентов в старших возрастных группах. Данная динамика показателей уровня фетального гемоглобина часто определяется у больных при серповидноклеточной анемии, гипоксии различного генеза, стрессовом эритропоэзе при воспалении и анемиях, сердечной недостаточности.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ МОДЕЛИРОВАНИЯ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННОГО D-ГАЛАКТОЗОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ VJ-5ta

А. А. Гераскина, Т. А. Мищенко, М. В. Ведунова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
geraskinan23@mail.ru

Применение D-галактозы (D-gal) является наиболее распространенной моделью ускоренного старения, используемой в экспериментальных исследованиях. D-gal представляет собой альдогексозу, которая при высоких концентрациях может превращаться в альдозу и гидропероксид под действием галактозооксидазы, приводя к образованию реактивных форм кислорода (ROS). Повышение уровня ROS может вызвать окислительный стресс, воспаление, дисфункцию митохондрий и апоптоз.

Исследования по моделированию ускоренного D-gal старения выполнены на культурах иммортализованных фибробластов кожи человека VJ-5ta. Экспериментальные работы с культурами клеток проводились после 3 пассажа. После полного прикрепления клеток к субстрату культивирования осуществлялась полная замена среды на среду, содержащую D-gal в следующих концентрациях: 150 мМ, 200 мМ, 250 мМ, 300 мМ, 350 мМ, 400 мМ. В контрольной группе производилась замена культуральной среды на полную ростовую. Далее культуры содержались в условиях CO₂ инкубатора при температуре 37°C и газовой смеси, содержащей 5% CO₂ в течение 48 часов.

После периода инкубации проводилось окрашивание культур для выявления степени физиологического старения с использованием коммерческого набора Senescence β -Galactosidase Staining (Cell Signaling Technology, США). По результатам окрашивания не было выявлено значимой экспрессии фермента, в связи с чем было увеличено время инкубации до 72 часов.

Качественный морфологический анализ культур, проведенный через 48 и через 72 часа после культивирования в среде с D-gal, позволил установить, что с повышением концентрации D-gal происходит снижение пролиферативной активности культур. Установили выраженное цитотоксическое действие D-gal в концентрациях 300 мМ и выше, в связи с чем дальнейшие исследования проведены с применением концентраций 200 мМ и 250 мМ.

Анализ метаболической активности клеток постоянной клеточной линии VJ-5ta выполнялся с использованием МТТ-теста. Установлено, что повышение концентрации D-gal сопровождается снижением количества метаболически активных клеток. В группе культур с применением D-gal в концентрации 200 мМ показано выраженное снижение количества метаболически активных клеток, в концентрации 250 мМ наблюдается достоверное снижение количества метаболически активных клеток в 4 раза относительно контрольных значений.

В культурах клеток фибробластов человека VJ-5ta, инкубированных с D-gal в обоих исследуемых концентрациях в течение 72 часов, установлено достоверное повышение экспрессии биомаркера старения SA- β -Gal. Количество SA- β -Gal-положительных клеток в культурах с применением D-gal в концентрации 200 мМ и 250 мМ составило 18,5 \pm 8,6% и 10,5 \pm 3,3%.

Таким образом, была разработана модель ускоренного D-gal старения для фибробластов кожи человека VJ-5ta.

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

ВЛИЯНИЕ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ И СТРУКТУРНЫХ ПАРАМЕТРОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ ОРГАНОВ МЫШИ НА РОСТ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКА

С. Д. Гефтер¹, А. Д. Поспелов¹, Д. Б. Трушина^{2,3}, Ю. М. Ефремов², И. В. Балалаева¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23
sofia.gieftier.00@mail.ru

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

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

Биомеханические силы внеклеточного матрикса (ВКМ) играют решающую роль в прогрессировании рака и поведении злокачественных клеток. Тканеинженерные конструкты на основе ВКМ позволяют изучить такой фундаментальный аспект опухолевой прогрессии, как клеточно-матриксные взаимодействия, в том числе и в контексте биомеханических и структурных параметров ВКМ, открывая потенциальные возможности получения новых разработок в области прикладной онкологии.

Цель работы: изучить влияние биомеханических и структурных параметров ВКМ децеллюляризованных (ДЦЛ) органов на рост клеток аденокарциномы яичника человека линии SKOV-3.

ВКМ получали из органов лабораторных мышей линии Balb/C (легкие, печень, почки, селезенка) методом децеллюляризации с использованием детергентов. Для анализа размера пор и структуры ДЦЛ матриксов проводили сканирующую электронную микроскопию. Локальную жесткость матриксов исследовали посредством атомно-силовой микроскопии. Общую жесткость оценивали при помощи микромеханической системы со сферическим индентором $\varnothing = 1$ мм. Полученные ДЦЛ матриксы заселяли опухолевыми клетками методом инъекции и культивировали в течение недели. Для оценки морфологии и подсчета количества клеток проводили стандартное гистоморфологическое исследование.

В результате были выявлены тканеспецифичные особенности при репопуляции опухолевыми клетками всех ДЦЛ матриксов. В матриксе легкого клетки мезенхимальной морфологии обнаруживаются по всему матриксному пространству, формируя клеточные тяжи. Аналогичные внешние и поведенческие признаки клеток выявлены в ДЦЛ матриксах печени и почки, однако клетки локализованы преимущественно в исходно соединительнотканых участках органов. Инвазия клеток в матрикс селезенки низкая, клетки полигональной формы распределены одиночно по внешнему периметру капсулы органа. По итогам работы были выявлены следующие тенденции клеточного роста: наибольший рост клеток линии SKOV-3 наблюдался в матриксах с наименьшими значениями общей жесткости и наибольшим диаметром пор, что характерно для ВКМ легкого; далее численность клеток убывала в ряду печень-почка-селезенка. Прямой зависимости увеличения численности клеток от локальной жесткости ВКМ обнаружено не было. Используемые в работе клетки при культивировании в монослое проявляют промежуточный мезенхимальный фенотип. Можно предположить, что небольшая жесткость матрикса и крупные поры обеспечивают низкое натяжение матриксных фибрилл и большое количество свободного пространства для исходно склонных к миграции клеток. Ранее сходная закономерность была получена нами для выражено мезенхимальных клеток рака молочной железы линии MDA-MB-231, что позволяет говорить об универсальности влияния биомеханических и структурных параметров ВКМ на опухолевые клетки разного происхождения со сходным фенотипом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (проект FSWR2023-0032) и Российского научного фонда (грант № 21-74-30016).

ПОЛУЧЕНИЕ ДЕЛЕЦИОННОГО МУТАНТА *BACILLUS SUBTILIS* ПО ГЕНУ БАЦИЛЛИБАКТИНА С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR/CAS9

А. И. Гильмутдинова, Ю. А. Васильева, Д. И. Хасанов, Ю. В. Данилова, Н. Л. Рудакова, Е. С. Волкова, Е. Э. Ласточкина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; aigwinrygilmuizn@gmail.com

Ризобактерии, способствующие росту растений (PGPR), являются одним из наиболее изучаемых методов борьбы с фитопатогенами. Среди них *Bacillus* является одним из наиболее изученных родов, в частности *B. subtilis* широко признан модельным организмом для изучения взаимодействия растений и микроорганизмов, поскольку был обнаружен в ассоциации с различными растениями как хороший колонизатор, что имеет большое значение для применения в биоконтроле. После колонизации *B. subtilis* способствует росту растений различными способами, включая подавление патогенов растений путем прямого антагонизма, а также PGPR-бактерии обладают способностью приводить к состоянию индуцированной системной резистентности (ISR). Для поддержания и повышения продуктивности сельскохозяйственных культур, *Bacillus spp.* способны синтезировать экзополисахариды, сидерофоры, фитогормоны, сурфактанты, играющие особую роль в жизни растений. Одними из функций бактериальных сидерофоров являются изменение состава почвенного микробного сообщества, стимулирование роста растений и усиление биоремедиации тяжелых металлов.

Таким образом, целью является оценка вклада бациллибактина в ISR, путем создания мутантного штамма с помощью технологии CRISPR/Cas9.

Для удаления гена *dhbF* был использован челночный вектор pJOE9282.1, основанный на системе CRISPR/Cas9 II типа *Streptococcus pyogenes*. На первом этапе была получена sgRNA путем гибридизации двух комплементарных олигонуклеотидов, которая затем была лигирована в рестрицированный по сайту *BsaI* вектор pJOE9282.1. Вставка sgRNA приводит к замене фрагмента *lacZα* и позволяет проводить сине-белый скрининг. На втором этапе два фрагмента, фланкирующие целевую последовательность гена *dhbF*, были амплифицированы с использованием ПЦР из геномной ДНК. Затем, полученные фрагменты и вектор были рестрицированы по сайту *SfiI* и соединены методом упорядоченной сборки генов в *Bacillus subtilis* (OGAB). Подтверждение наличия вставок на каждом этапе было осуществлено секвенированием. Таким образом, был сконструирован вектор pGAb08.23 для инактивации гена *dhbF* в геноме *B. subtilis sp.*

С целью получения мутантного штамма, данную плазмиду трансформировали методом химической трансформации. Производили отбор колоний и инкубировали при 30°C на среде с добавлением 0.2% ксилозы, необходимой для индукции гена *cas9*, находящегося под контролем ксилоза-индуцируемого промотора (*P_{xyl}*). После двухдневного культивирования отбирали колонии и помещали на агаризованную среду без антибиотика и инкубировали при 42°C. Внесение изменения в геном штамма подтверждали секвенированием.

Таким образом, был сконструирован вектор (pGAb07.23) для инактивации гена *dhbF* в геноме *B. subtilis sp.* и получен делеционный мутант с инактивированным геном бациллибактина (*dhbF*).

Работа поддержана грантом РФФ № 22-16-00138.

ВЛИЯНИЕ АКТИВАТОРОВ p53 НА УРОВЕНЬ ПОВЕРХНОСТНЫХ ЛИГАНДОВ NKG2D В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ С РАЗЛИЧНЫМ СТАТУСОМ p53

Э. М. Гилязова, А. Х. Валиуллина, Д. Р. Давлетшин, Э. Р. Булатов

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

NKG2D представляет собой активирующий рецептор, который связывается с лигандами MICА/В и ULBP1-6, обычно индуцируемыми на поврежденных, онкотрансформированных или инфицированных клетках и опосредующими их уничтожение.

Литературные данные свидетельствуют о том, что активация белка p53 приводит к повышению экспрессии лигандов NKG2D рецептора на поверхности опухолевых клеток. Известно, что p53 способен стимулировать иммунный ответ за счет индукции секреции цитокинов и других провоспалительных факторов, к тому же реактивация мутантного p53 способна приводить к гибели опухолевых клеток путем запуска апоптоза.

Усиление экспрессии лигандов NKG2D способствует более эффективному распознаванию опухолевых клеток анти-NKG2D CAR-T клетками и последующей элиминации. Комбинация активаторов p53 (дикого и мутантного) и NKG2D CAR-T клеток позволит взаимно усилить комбинированный противоопухолевый эффект этих двух видов терапии, сохранив при этом высокую специфичность.

Таким образом, целью данной работы является оценка влияния низкомолекулярных активаторов p53 на экспрессию поверхностных лигандов NKG2D в опухолевых клеточных линиях с различным статусом p53.

В работе использовали следующие клеточные линии: MCF7 p53wt, MCF7 p53-/-, Huh7 p53Y220C и трансдуцированная клеточная линия Huh7 p53Y220C (MicA+, ULBP+). В качестве активаторов p53 в работе использовали коммерческое низкомолекулярное соединение APR-246 и JC36 (производное (1H-пиррол-1-ил)индазола).

Для оценки цитотоксичности и определения значения IC₅₀ был проведен колориметрический МТТ тест. Для этого клетки были обработаны веществом JC36 в диапазоне концентраций от 0 до 100 мкМ, веществом APR-246 – от 0 до 40 мкМ. В качестве отрицательного контроля служили клетки, обработанные ДМСО в концентрации 1%. Полученные данные обрабатывали в программе GraphPad Prism 8: строили графики зависимости жизнеспособности клеток (%) от логарифма концентраций веществ и рассчитывали концентрации IC₅₀. Оценка изменения уровня лигандов NKG2D после обработки активаторами проводили методом проточной цитометрии.

Полуингибирующие концентрации для вещества JC36 на всех клеточных линиях находятся в диапазоне концентраций от 11 до 47 мкМ, примечательно, что для клеточных линий с мутацией p53 концентрации IC₅₀ ниже, чем для клеточных линий с диким и нокаутным типом. Диапазон полуингибирующих концентраций для соединения APR-246 составил от 4 до 21 мкМ.

Уровень поверхностных лигандов NKG2D (MICА/В и ULBP 2/5/6) увеличился после обработки обоими соединениями в клеточной линии с нокаутом по p53 и после обработки производным индазола клеточной линии с диким типом p53.

Полученные результаты в дальнейшем позволят оценить эффективность активаторов белка p53 в комбинации с NKG2D CAR-T клетками против солидных опухолей с различным статусом p53.

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

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПЛАЗМИДНЫХ ПРОФИЛЕЙ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Н. С. Глазкова¹, А. Е. Алексеева², Л. Б. Луковникова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Nglazkova7728@gmail.com

²Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603950,
Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

В настоящий момент исследователи уделяют наибольшее внимание изучению способов передачи детерминант антибиотикорезистентности среди нескольких наиболее распространенных таксонов микроорганизмов, которые получили название ESKAPE-патогены. Именно бактерии этой группы представляют наибольшую угрозу для мирового здравоохранения. Изучение механизмов распространения высоко устойчивых штаммов данных видов бактерий в различных медицинских учреждениях и установление степени их генетического родства также является актуальным направлением научных.

Известно, что кроме широко используемого в рутинной диагностической практике бактериологического метода, молекулярно-генетическое исследование структурных особенностей выделенных изолятов позволяет дать более подробную характеристику бактериальных штаммов и провести внутривидовое типирование, что играет большую роль в оценке эпидемического процесса и установлении механизмов и путей распространения бактериальных изолятов. Значимым подходом к оценке родственных связей штаммов микроорганизмов является филогенетический анализ.

Объектом исследования служили чистые культуры клинических штаммов *K. pneumoniae*, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью. Исследуемые изоляты были выделены из раневого отделяемого у пациентов отделений интенсивной терапии. Полногеномное секвенирование штаммов *K. pneumoniae* проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Сборку чтений *de novo* осуществляли с использованием сервиса Assembly и программного обеспечения SPAdes. Поиск детерминант антибиотикорезистентности проводили с помощью базы данных Comprehensive Antibiotic Resistance Database и сервиса ResFinder. Филогенетический анализ осуществляли с помощью web-сервиса REALPHY. Для построения филогенетических деревьев использовали программу MEGA.

Показано, что в настоящее время в медицинских учреждениях Нижнего Новгорода в популяции полирезистентных штаммов *K. pneumoniae* обнаружены представители различных сиквенс-типов, среди которых встречаются штаммы, обладающие родственными связями со штаммами, циркулирующими не только на территории Российской Федерации, но и за ее пределами. При этом характерной особенностью является наличие у этих штаммов родственных плазмид, несущих множество детерминант антибиотикорезистентности, в том числе генов металло-бета-лактамаз.

Полученные данные могут быть использованы для оценки степени родства штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих на территории Нижегородских стационаров, и эпидемической ситуации в отделениях конкретных лечебных учреждений, а также для разработки подходов к выявлению источника и путей передачи возбудителя, основанных на методах молекулярной эпидемиологии.

АЛЬГОФЛОРА ИЖЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА (УДМУРТСКАЯ РЕСПУБЛИКА)**П. А. Глушко**Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Polinglu@mail.ru

В данном сообщении приведены результаты исследований планктонных и бентосных водорослей Ижевского водохранилища. Ижевское водохранилище – крупный градообразующий водоем (площадь зеркала 24 –26,4 км²) и рекреационная зона. В 1760 было запружено на р. Иж для нужд Ижевского железоделательного завода. Крупные предприятия города используют воду из водохранилища в качестве технической, МУП «Ижводоканал» производит забор для водоснабжения города. Также водоем является излюбленным местом рыбаков-любителей, интересным историческим и культурным объектом, играет важную роль в формировании городского климата.

С начала 2000-х годов в водохранилище в летне-осенний период регулярно наблюдается «цветение» воды вследствие массового размножения цианобактерий и зеленых водорослей. Это приводит к ухудшению качества воды.

Последние исследования фитопланктона Ижевского водохранилища были проведены еще в 2002-2005 гг. для МУП «Ижводоканал» и в 2010-2012 гг. на базе УдГУ. Для оценки современного состояния водохранилища нами были собраны альгологические и гидрохимические пробы в сентябре 2023 г. на 6 станциях. Были отобраны 6 проб поверхностного слоя воды и 3 пробы с обрастаний донного грунта. Отбор и обработку проб проводили согласно общепринятым методам. В ходе исследований было выявлено 150 видов. Наибольшее количество таксонов относится к отделам *Ochrophyta* (43%, из которых 82% – представители класса *Bacillariophyceae*), *Chlorophyta* (24,6%) и *Cyanobacteria* (21,3%). Также в состав фитопланктона Ижевского водохранилища входят представители отделов *Euglenophyta* (5%), *Charophyta* (4%), *Dinoflagellata* (2%).

Химический анализ был проведен по показателям pH, NO₃⁻, PO₄³⁻, Cl⁻, HCO₃⁻, O₂ растворенный, жёсткость, Ca²⁺ и общая минерализация. Органолептически оценивался запах, прозрачность и цветность воды.

На основе проведенного анализа можно сделать вывод, что в осенний период в планктоне Ижевского водохранилища преобладают виды, предпочитающие малопроточные мелководные водоемы с высоким содержанием биогенов.

Превышений ПДК и несоответствий СанПиН 1.2.3685-21 по изучаемым показателям в момент исследований установлено не было. При этом органолептический анализ выявил несоответствие гигиеническим нормативам по показателям запаха, цвета и прозрачности в 4 точках из 6.

Необходимо продолжать мониторинг состояния водохранилища и принимать меры по его реабилитации для восстановления экосистемы водоёма и сохранения его значения для города.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСУДИСТОГО РУСЛА ОПУХОЛЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТИАНГИОГЕННОГО ПРЕПАРАТА АКСИТИНИБ

А. М. Глявина^{1,2}, К. Г. Ахмеджанова^{1,2}, А. А. Курников¹, Ю. А. Хоченкова³, Д. А. Хоченков³, И. В. Турчин¹, П. В. Субочев¹, А. Г. Орлова¹

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

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115522, Москва,
Каширское ш., 23

В данной работе использовано сочетание методов оптоакустической (ОА) микроскопии и оптической диффузионной спектроскопии (ОДС) для исследования эффектов антиангиогенного препарата на структуру сосудов и оксигенацию экспериментальных опухолей. Для верификации данных ОДС проводилось иммуногистохимическое (ИГХ) исследование опухолевых тканей с маркером гипоксии пимонидазолом (ПМ). Для терапии использовано противоопухолевый препарат Акситиниб, который является ингибитором тирозинкиназных рецепторов фактора роста эндотелия сосудов, 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). 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. ОА и ОДС исследование проводили начиная с 9 дня роста опухолевого узла с интервалом 7 дней до 37 суток роста новообразований.

Во время исследования животные находились под изофлурановым наркозом. Для ОА-визуализации использована установка (ИПФ РАН) с лазером с длиной волны 532 нм и частотой следования и длительностью импульса 2 кГц и 1 нс. Для метода ОДС (ИПФ РАН) использовался оптический зонд, изготовленный из четырех волокон, использующий светодиод с длиной волны 400-700 нм в качестве источника 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 более 80%. Методом ОДС показано, что в нелеченых опухолях наблюдалось быстрое снижение уровня StO₂ в течение первых 14 дней эксперимента, который оставался сниженным до окончания исследования. При воздействии Акситиниба на 20-30 сутки StO₂ превышал контрольный в 2 раза. ИГХ анализ показал более высокие значения RHF после воздействия Акситинибом по сравнению с контрольными демонстрируя повышение площади зон гипоксии. С помощью ОА визуализации показано отсутствие регулярной структуры сосудистой сети. Получены данные о ветвистости, плотности и размере опухолевых сосудов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда № 21-15-00032.

ГЕРОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТА *BERBERIS VULGARIS* L.

***Д. А. Голубев*^{1, 2}, *Е. Ю. Платонова*¹, *Н. В. Земская*¹, *О. Г. Шевченко*¹, *С. А. Патов*¹, *П. С. Некрасова*¹, *М. В. Шапошников*¹, *У. М. Ибрагимова*³, *Н. В. Валуйский*³, *А. В. Борисов*³, *К. И. Жукова*³, *С. А. Сорокина*³, *Р. А. Литвинов*³, *А. А. Москалев*¹**

¹Институт биологии Коми научного центра УО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28;
denismeatboy@gmail.com

²Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, 167001, Сыктывкар, просп. Октябрьский, 55

³Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

Старение представляет собой биологический процесс постепенного снижения функциональности живых организмов с течением времени. По мере старения наши клетки, ткани и органы постепенно испытывают функциональный упадок, что приводит к повышению восприимчивости к заболеваниям и снижению общей устойчивости к физиологическому стрессу. Использование пищевых добавок является одним из методов борьбы со старением. Диетические добавки, обогащенные биологически активными соединениями, представляют собой многообещающий подход к воздействию на физиологические процессы, тем самым способствуя общему здоровью и долголетию. Целью настоящего исследования было изучение геропротекторного потенциала экстракта *Berberis vulgaris* L. Нами было изучено влияние экстракта барбариса на продолжительность жизни и экспрессию генов (включая гены устойчивости к окислительному стрессу) *D. melanogaster*. Эксперимент был выполнен с использованием линии дикого типа Canton-S. Линии дрозофил культивировали на питательной среде с добавлением экстракта барбариса в концентрациях 0.01, 0.1, 1, 2.5 и 5 мг/мл.

Мы показали, что экстракт *Berberis vulgaris* L. может, в зависимости от концентрата, увеличивать продолжительность жизни до 6%, способствовать поддержанию здоровья (увеличение показателей стрессоустойчивости до 35%, двигательной активности до 25%, целостности кишечного барьера до 12%, скорости метаболизма до 5%) *Drosophila melanogaster* и проявляет антиоксидантную (с использованием эритроцитарных тестов) и антигликирующую активность (с использованием гликирования бычьего сывороточного альбумина). Важно отметить, что наше исследование было сосредоточено на влиянии экстракта *Berberis vulgaris* L. на различных моделях с использованием анализов *in vitro* и *in vivo*, и необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить степень, в которой эти результаты могут быть применимы к людям.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*» N 122040600022-1.*

ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ Г. БАЛАКОВО

Д. М. Голубев, Д. Д. Нестеркина, А. А. Овечкина, Е. В. Глинская

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83;
dimagolubev2018@yandex.ru

В последние десятилетия деятельность человека оказала интенсивное воздействие на почвы, что привело к снижению ее качества. Урбанизация стала причиной уплотнения, эрозии и загрязнения почв. Растущее число отраслей промышленности и, как следствие, повышенный вывоз отходов, рост населения и городское развитие в нетронутых районах привели к изменениям в землепользовании и считаются факторами нарушения ряда экологических процессов. Деградация почв может происходить, в частности, под действием загрязняющих материалов, содержащих нитратные соединения. Для устранения азотосодержащих веществ и улучшения качества почвы используют препараты на основе денитрифицирующих бактерий, естественная повышенная численность в почве которых может свидетельствовать о ее загрязнении и уменьшении концентрации кислорода в ней.

Целью исследования являлась оценка количественных показателей денитрифицирующих бактерий, выделенных из почв г. Балаково.

Объектом исследования являлись почвы, отобранные в черте г. Балаково в летний период 2023 г. Балаково – крупный промышленный центр Саратовской области с населением около 182 тысяч человек (2022 г.). В городе и его пригородах расположены крупные предприятия энергетической, химической, металлургической отрасли, а также других профилей (транспортной, строительной, пищевой, легкой и пр.). Было отобрано 34 почвенные пробы.

Для выделения денитрифицирующих бактерий использовали метод последовательных разведений и посева 0.1 мл почвенной суспензии на поверхность нитратного агара (ГРМ-агар (Оболensk, Россия) + 0,1% KNO_3). Через 2-4 суток после культивирования в эксикаторе при температуре $+28^\circ\text{C}$ осуществляли подсчет выросших колоний и рассчитывали численные показатели для каждой пробы.

В ходе эксперимента было выявлено, что численность бактерий-денитрификаторов варьировала от 5,0 до 7,0 lgKOE/г . Среди всех почвенных проб максимальная численность денитрифицирующих бактерий была зафиксирована в пробах, отобранных около гаражного кооператива, многоэтажной застройки, городского парка, жилого сектора, ремонтно-электромеханического завода, автомойки, складских баз, железнодорожных путей и асфальтобетонного завода. Пробы почв с пустыря вдоль р. Волги, дачного массива и палисадника в жилой зоне характеризовались самой низкой численностью нитрифицирующих бактерий.

Результаты анализа показали, что численность денитрифицирующих бактерий естественно увеличивается при повышении антропогенного воздействия на экосистемы.

ИССЛЕДОВАНИЯ АКВАРИУМНОЙ ФАУНЫ *HARPACTICOIDA* (COPEPODA) МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

М. А. Голубев^{1,2}, *А. С. Бакашкина*^{1,2}, *Е. Б. Фефилова*¹, *И. О. Вележанинов*¹, *В. А. Гусаков*³

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; *maksim.golubev.21@mail.ru*

²Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, 167001, Сыктывкар, просп. Октябрьский, 55

³Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Борок Ярославской обл., 106

Одним из последствий хозяйственной деятельности человека в современном мире является быстрое расселение водных беспозвоночных на большие расстояния, преодоление ими биогеографических границ и соответственно изменение нативного биоразнообразия водоемов и регионов. Известен механизм проникновения чужеродных видов в природные экосистемы, связанный с аквариумистикой.

Материалом для исследований послужили ракообразные, собранные в октябре-ноябре 2022 г. в аквариумах «Республиканского центра экологического образования» (г. Сыктывкар, Республика Коми) и в октябре 2023 г. в лаборатории экспериментальной экологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина (пос. Борок, Ярославская область).

Морфологический анализ гарпактикоид включал сравнение особей по основным диагностическим признакам веслоногих ракообразных, а также строению интегумента экзоскелета при помощи флуоресцентной микроскопии (картирование пор). Популяции *Nitocra pietschmanni* Charpuis, 1934 во всех исследованных аквариумах г. Сыктывкар были представлены самцами и самками, полиморфными по некоторым признакам (размер половозрелых самок от 0,5 до 1 мм, число шипиков на анальной пластинке от 4 до 8 и др.). Популяции *Elaphoidella cf. sewelli* (Charpuis, 1928) и в Сыктывкаре, и в Борке состояли исключительно из самок. В природных местообитаниях *N. pietschmanni* встречается в Тихоокеанском бассейне, разные подвиды *E. sewelli* указаны для Индии, Африки, Центральной Америки.

Молекулярно-генетические исследования гарпактикоид выполнялись на базе ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Были получены баркоды шести особей *E. cf. sewelli*, и пяти особей *N. pietschmanni*. Длина последовательностей составила в среднем 525 п.н. На основании филогенетического анализа для *N. pietschmanni* установлена принадлежность к семейству *Ameridae*, для *E. cf. sewelli* – к роду *Elaphoidella* (сем. *Canthocamptidae*), также при помощи BLAST было установлено родство с *E. sewelli* из аквариума Новой Зеландии. Генетические различия на исследуемом фрагменте ДНК *E. cf. sewelli* из Борка и Сыктывкара составили один нуклеотид, между особями из Новой Зеландии и Борка молекулярных различий не обнаружено.

Таким образом, на основании анализа полученных данных можно сделать вывод о существовании ограниченного числа видов гарпактикоид, специфичных для аквариумной фауны. Перспективы дальнейшего изучения филогеографии этих ракообразных связаны с расширением географии исследований и базы молекулярно-генетических данных.

Работа выполнена в рамках госзадания отдела экологии животных Института биологии Коми НЦ УрО РАН: 122040600025-2.

ВЛИЯНИЕ ДЕЛЕЦИЙ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА СЕРОВОДОРОДА CBS, CSE И MST ПРИ ОГРАНИЧЕННОМ ПОТРЕБЛЕНИИ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ (МЕТИОНИНА И ЦИСТЕИНА) НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

А. А. Горбунова, М. В. Шапошников, Т. В. Бабак, Л. А. Коваль, А. А. Москалев

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28;
Asenbka_aa@mail.ru

Эндогенный синтез сероводорода осуществляется под влиянием трех ферментов: цистатионин-β-синтазы (CBS), цистатионин-γ-лиазы (CSE) и 3-меркаптопируват-сульфуртрансферазы (3MST), работающего совместно с цистеинаминотрансферазой (CAT) по пути транссульфурации за счет поступления в организм серосодержащей незаменимой аминокислоты метионина и полунезаменимой – цистеина. Объектом настоящего исследования являются лабораторные линии *D. melanogaster* с делециями генов CBS, CSE и MST в разных вариациях. При этом, контролировалось содержание метионина и цистеина в диете мух. В предыдущих исследованиях нашей лаборатории совместно с коллегами из ИМГ РАН им. Энгельгардта было показано, что как сверхэкспрессия генов CBS и CSE, так и их делеция ведет как к положительному, так и отрицательному эффекту на организм. Также из опубликованных ранее данных известно, что продукция сероводорода связана с содержанием аминокислот метионина и цистеина в диете. Очевидно, сероводород и продуцирующие его ферменты вносят значительный вклад в процесс жизнедеятельности организма, увеличивая продолжительность жизни модельных животных.

Целью данного исследования являлось установить, как делеция генов CBS, CSE и MST и ограниченное содержание серосодержащих аминокислот в пище (метионина и цистеина) влияет на продолжительность жизни и активность мух.

Эксперимент показал, что отсутствие какого-либо из ферментов (делеция гена CBS или CSE) в совокупности с дефицитом обоих серосодержащих аминокислот метионина и цистеина в диете приводит к тому, что продолжительность жизни *D. melanogaste* выше, чем, в присутствии аминокислоты метионина. Это может быть связано с накоплением гомоцистеина, что ведет к различным нарушениям в организме. Наличие же только цистеина в диете оказывает на выживаемость более положительный эффект.

Совершенно противоположный результат наблюдается при условии наличия обоих ферментов. В этом случае наличие только метионина в диете ведет к лучшей выживаемости, чем присутствие только цистеина.

Наилучший результат в выживаемости показали мухи, несущие делецию по гену MST.

Необходимы дальнейшие исследования для выявления механизмов действия сероводородпродуцирующих ферментов на продолжительность жизни *D. melanogaste*.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ N 17-74-30030.

ВЛИЯНИЕ СТАДИИ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА НА 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

Проявление симптомов шизофрении зависит от уровня циркулирующих гормонов и от пола. У мужчин в большей мере проявляются негативные и когнитивные симптомы шизофрении, тогда как женщины чаще страдают от позитивных симптомов.

Целью данного исследования было установить проявление симптомов шизофрении в зависимости от стадии эстрального цикла.

Материалы и методы. Исследования проводились на самках крыс линии Wistar в возрасте от 3 месяцев. Моделирование шизофрении осуществлялось путем введения МК-801 (0,1 мг/г) опытной группе внутрибрюшинно в течение 5 дней. После моделирования ежедневно брали влагалищные мазки и определяли стадии эстрального цикла. Для изучения поведенческих реакций использовали тесты «открытое поле», «темно-светлая камера». Статистический анализ проводили методами непараметрического анализа с использованием программы OriginPro с применением тестов Mann Whitney, Wilcoxon, ANOVA.

Результаты исследования. Введение антагониста NMDA-рецепторов вызывает повышение двигательной активности крыс в периферической зоне «открытого поля» на третий день ($78,2 \pm 6,09$ исследованных квадратов против $51,1 \pm 3,11$ в контроле, $p < 0.05$). Вертикальная исследовательская активность, выраженная в количестве вертикальных стоек, напротив снижается уже после первого введения МК-801 ($2,4 \pm 1,08$ против $14,5 \pm 1,25$ в контроле, $p < 0.05$). Количество переходов между камерами в тесте «темно-светлая камера» также снижается ($5,6 \pm 0,76$ против $5,4 \pm 2,23$ в контроле, $p < 0.05$).

В тесте «открытое поле» у крыс с моделью шизофрении в стадии с низким уровнем эстрогена (метаэструс, диэструс) наблюдается гиперлокомоция в отличии от стадий с высоким уровнем эстрогена (проэструс, эструс) ($33,3 \pm 4$ против $30,4 \pm 4,4$, $p < 0.05$). Вертикальная исследовательская активность увеличивается в стадии метаэструса и диэструса, а снижается в стадии проэструса и эструса ($8,4 \pm 1,1$ против $7,5 \pm 1,5$, $p < 0.05$). В тесте «темно-светлая камера» в стадии метаэструса и диэструса наблюдается повышение количества переходов между камерами, относительно стадии эструса ($3,5 \pm 0,6$ против $2,7 \pm 0,5$, $p < 0.05$).

Заключение. Установлена зависимость между стадиями эстрального цикла и изменением поведенческих реакций у крыс с моделью шизофрении. В фазы с низким уровнем эстрогена (метаэструс, диэструс) тяжесть проявления изменений в поведении увеличивается, в то время как в фазы с высоким уровнем эстрогена (проэструс, эструс) симптомы менее выражены.

ВЛИЯНИЕ КРЕМНИЙ-СОДЕРЖАЩИХ БИОСТИМУЛЯТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

А. О. Гранкина

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пущино Московской обл., ул. Институтская, 2;
3274847g@gmail.com

Целью данного исследования было изучение влияния различных кремний-содержащих биостимуляторов на рост и развитие сахарной свеклы в условиях дефицита влаги, а также на содержание пигментов и активность антиоксидантов. Для тепличных экспериментов была выбрана сахарная свекла (*Beta vulgaris* L., сорт Лада). Перед посевом все семена пропитывались в 3% растворе H_2O_2 , затем промывались в дистиллированной воде и замачивали на 24 часа в темной комнате при температуре 20°C. В качестве почвенного субстрата использовался промытый песок с нейтральным рН (7). В экспериментах применяли три кремнийсодержащих биостимулятора: АпаСил (ФосАгро, Россия) в дозе 50 г/га, концентрированная монокремниевая кислота (Эккси, Россия) в дозе 50 г/га и БрисФито С (Товесорб, Россия) в дозе 50 г/га. Все препараты растворялись в воде в пропорции 1:500 и наносились на растения методом опрыскивания листьев. Первое внесение проводилось через 3 недели после посева, перед наступлением стрессовой ситуации, а затем повторно через неделю после стресса.

Часть растений выращивали при оптимальной влажности, в то время как другая часть, после трех недель выращивания в оптимальных условиях и после первой обработки препаратами в указанных дозах, начинала полив половинной нормой, определенной в предварительных исследованиях. Через неделю растения снова обрабатывали теми же препаратами в тех же дозах. На следующий день после этого проводился сбор листьев для определения содержания пигментов, активности аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы, гваякол-зависимой пероксидазы и содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Затем растения выращивались еще неделю для определения биомассы.

Полученные биопараметры надземной и подземной частей растения, содержание пигментов, активность стресс-ферментов и содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в листьях сахарной свеклы позволяют сделать вывод о положительном влиянии кремний-содержащих биостимуляторов на адаптацию растений к изменяемым климатическим условиям и снизить потери урожая сахарной свеклы при засухе.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛОКАЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ СВЕТОМ И НАГРЕВОМ НА ИНДЕКСЫ ОТРАЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ПОЛИВЕ И ЗАСУХЕ

К. В. Гребнева, А. Ю. Попова, Е. М. Сухова, В. С. Сухов, Л. М. Юдина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
grebneva.kseniya01@mail.ru

Известно, что электрические сигналы могут влиять на многие физиологические процессы в растениях, в целом способствуя повышению их стрессоустойчивости. Оценку физиологических параметров, которые изменяются под действием стрессоров, удобно производить на основе характеристик отраженного света, например, с использованием индексов отражения. Однако взаимосвязь между электрическими сигналами и индексами отражения все еще мало изучена. Кроме того, ограниченное количество исследований рассматривает комбинации стимулов. Поэтому целью работы стал комплексный анализ влияния индуцированных нагревом и освещением электрических сигналов на индексы отражения растений в условиях полива и засухи.

Объектом исследования выступила яровая пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L., сорт «Дарья»), которая выращивалась на универсальном грунте в горшках на открытом воздухе в условиях естественной освещенности. Часть растений орошалась регулярно (через каждые 2 дня), часть подверглась засухе различной длительности путем прекращения полива. На часть растений обеих групп оказывалась локальная стимуляция синим светом (460 нм, 540 мкмоль $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$, 10 минут) и нагреванием (до 40°C, 30 минут) элементом Пельтье (Криотерм, Россия). Регистрация электрического сигнала у этих растений проводилась с использованием хлорсеребряных макроэлектродов и усилителя ИПЛ-113 (Семико, Россия). Съемка спектров и вычисление индексов отражения осуществлялись при помощи портативного спектрометра PolyPen RP410 (Photon Systems Instruments, Чехия).

Было показано, что при почвенной засухе достоверно изменяется большинство исследуемых индексов отражения, следовательно, их можно использовать для изучения действия этого фактора. В условиях полива электрические сигналы, распространяющиеся от зоны локального воздействия, оказывают на растения положительный эффект в виде преадаптации, проявляющийся через 9-10 дней после стимуляции, на что указывает рост таких индексов, как SRPI и PRI, и снижение ARI1. Стимуляция в начале засухи также оказывает положительный эффект на большинство исследуемых индексов, наиболее показательными из которых являются NDVI, PRI, ARI1. Этот эффект, однако, быстро исчезает. Стимуляция на более поздних сроках засухи (6-7 день) также может быть эффективна для адаптации растений, при этом достоверные быстрые изменения состояния растения отражают индексы SRPI, NPCI, ARI1, ARI2. Для мониторинга медленных изменений могут быть использованы индексы NDVI, CRI2, Ctr1 и Lic2.

Таким образом, показано, что различные индексы отражения могут использоваться для отслеживания как положительных изменений, индуцированных электрическими сигналами, так и отрицательных изменений, вызванных общим действием засухи.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-74-10088.

АНАЛИЗ СПЕЦИФИЧНОСТИ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ПАТОГЕНОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ С ПОМОЩЬЮ РАМ-ФЛУОРИМЕТРИИ И HS-ИМИДЖИНГА В РАСТЕНИЯХ *NICOTIANA BENTHAMIANA*

А. И. Гришина, А. С. Жаворонкова, М. Н. Агеева, А. А. Брилкина, В. А. Воденев
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
79159532707@yandex.ru

Патогены представляют серьезную угрозу для сельского хозяйства, требуя раннего обнаружения для сохранения и повышения качества урожая. Важно не просто обнаруживать наличие патогена, но и идентифицировать его природу, чтобы определить наиболее эффективные меры борьбы.

Целью данной работы является анализ специфичности детектирования вирусной и бактериальной инфекции с помощью РАМ-флуориметрии и гиперспектрального имиджинга.

Исследования проводились на четырёхнедельных растениях *Nicotiana benthamiana*, в которых наблюдали распространение вируса PVX и бактерии *Pseudomonas syringae*. Для отслеживания распространения PVX по растению, в капсид вируса был вшит белок GFP. В качестве методов обнаружения инфекции применяли РАМ-флуориметрию, гиперспектральный имиджинг и RGB-изображения. Данные получали каждый день в одно и то же время в течение 10 дней с помощью IMAGING-RAM M-Series MINI, PlantExplorerPro+ и гиперспектральной камеры Specim IQ. В неинкубированном (10 листе) листе табака, где с течением времени наблюдали развитие вирусной и бактериальной инфекции регистрировали вызванные инфицированием изменения параметров флуоресценции хлорофилла (максимальный квантовый выход фотосистемы II (Fv/Fm), квантовый выход фотосистемы II (ФПСII) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ)), а также спектры отражения в здоровых и инфицированных частях листа и нормализованные отражательные индексы (NRI).

Можно выделить следующие основные различия в эффектах патогенов разных типов на показатели флуоресценции хлорофилла. Вирус PVX оказывает слабый эффект на стационарные показатели флуоресценции хлорофилла в течение длительного времени после инфицирования. Бактерия *P. syringae* оказывает выраженный эффект на стационарные показатели, происходит понижение Fv/Fm и ФПСII, а также повышение NPQ. Для переходного ФПСII имеют место выраженные отличия от контроля в случае вирусной инфекции. Инфицирование вирусом вызывает усиление отражательной способности в диапазонах длин волн 510-650 нм и 690-720 нм. Отмеченные различия нарастают с увеличением времени после появления вируса в исследуемом листе. Инфицирование бактерией вызывает усиление отражательной способности в диапазонах длин волн 400-500 нм, 560-660 нм, 680-720 нм. В случае бактериальной инфекции необходимо отметить ослабление сигнала в ИК-диапазоне спектра, усиливающиеся с увеличением времени после инфицирования. Максимальные различия между патогенами двух типов имеют место для NRI530-650.

Работа выполнена в ходе выполнения проекта НЦМУ «Центр фотоники» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075-15-2022-293.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЕЗА***Е. А. Громова, Е. А. Додонова, Д. А. Миргазов, К. А. Осянин***Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности,
420075, Казань, Научный городок-2;
elizaveta-real@mail.ru

Бруцеллез – особо опасное зоонозное заболевание, возбудителем которого являются бактерии рода *Brucella*, наиболее патогенными для человека из которых являются виды *B. melitensis*, *B. abortus* и некоторые биовары *B. suis* и *B. canis*. Широкое применение для молекулярно-генетической характеристики возбудителя бруцеллеза получил метод MLVA – мультилокусный анализ варибельности количества tandemных повторов. Ранее нами был разработан MLVA протокол, включающий в себя анализ 15-ти VNTR-локусов с помощью претерпевших редизайн традиционно применяемых для MLVA олигонуклеотидных праймеров. Целью исследования явилась оценка эффективности применения разработанного протокола проведения MLVA для дифференциации штаммов возбудителя бруцеллеза.

На первом этапе работы апробировали разработанный MLVA-протокол с использованием ДНК бактерий *B. canis* RM 6/66, *B. suis* 1330, *B. suis* 183-L и *B. melitensis* 1565. MLVA проводили методом ПЦР с последующим разделением ампликонов в агарозном геле. Установили, что положительная амплификация наблюдалась для десяти из 15-ти VNTR-локусов. Для референтных штаммов *B. canis* RM 6/66 и *B. suis* 1330 молекулярный размер данных локусов подтвердили *in silico*, после чего путем экстраполяции также определили точную молекулярную массу VNTR-локусов для штаммов *B. suis* 183-L и *B. melitensis* 1565. На следующем этапе работы для 49 штаммов бруцелл, представленных в базе данных GenBank, MLVA провели *in silico*. Для этого с помощью программы Vector NTI 9.1 нуклеотидные последовательности I и II хромосом данных штаммов ограничили разработанными для амплификации VNTR-локусов праймерами, после чего определили молекулярный размер соответствующего VNTR-локуса и количество повторов в нем. По результатам проведенного MLVA построили дендрограмму. На основании кластерного анализа последовательностей десяти варибельных локусов установлено, что большинство исследуемых штаммов бруцелл распределились на дендрограмме в соответствии с их таксономическим положением. Таким образом заключили, что предложенный нами MLVA-протокол имеет потенциал использования для дифференциации штаммов бруцелл.

ТЕСТИРОВАНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ *A. BAUMANNII* МЕТОДОМ ОСЦИЛЛЯЦИИ НА АТОМНО-СИЛОВОМ МИКРОСКОПЕ

О. А. Грубова^{1, 2}, С. Н. Плескова^{1, 2}

¹Нижегородский государственный технический университет им. Р. Е. Алексеева, 603155, Нижний Новгород, ул. Минина, 24;

ogrubova26@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

A. baumannii может колонизировать большое количество живых организмов и инертных поверхностей, где выживает в течение длительного периода времени. Летальность от инфекции *A. baumannii* может составлять от 19 до 54%. Постоянная генерация устойчивости к антибиотикам препятствует лечению инфекций, вызываемых *A. baumannii* и способствует отбору эндемических и эпидемических мультирезистентных штаммов.

Целью работы было исследование динамики чувствительности/резистентности бактерий *A. baumannii* 173-p1 к антибиотикам и определение минимального времени, при котором в режиме осцилляции кантилевера АСМ наблюдается падение аналитического сигнала, свидетельствующего о чувствительности бактерий к антибиотикам.

Рабочая суспензия бактерий *A. baumannii* 173-p1 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 10⁹ 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. После экспозиции кантилевера с бактериями из аналитической камеры отбирали 2 мл питательной среды и вносили 2 мл раствора антибиотика. Измерения DFL в среде с антибиотиком проводится в течение 60 минут.

Таким образом было показано, что метод регистрации сигнала осцилляции АСМ, отражающий нанодвижения бактерий в процессе их метаболической активности, дает информацию о чувствительности/резистентности бактерий к антибиотикам уже через час после начала исследований, что позволяет использовать этот метод в дальнейшем в медицинской практике.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-14-20001.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ В МАТРИЦАХ БИОПОЛИМЕРНЫХ НОСИТЕЛЕЙ

П. В. Гук, И. Г. Торгашина

Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, просп. Свободный, 79;
gukpauline@yandex.ru

Алкогольдегидрогеназа (ADH) – фермент оксидоредуктаз, катализирующий окисление алкоголя до альдегида или кетона с восстановлением NAD⁺ или NADP⁺. ADH широко применяется в химической и фармацевтической областях для определения концентраций этанола, а также используется в биосенсорах для проведения ферментативного ингибиторного анализа. Тем не менее, как и большинство ферментов, алкогольдегидрогеназа при использовании в анализах *in vitro* может быть чувствительна к изменению физических и химических факторов окружения. Одним из способов обеспечения стабильной и эффективной работы фермента является переход от растворимой формы к твердой посредством иммобилизации.

Цель работы: определение физико-химических характеристик алкогольдегидрогеназы иммобилизованной в гели крахмала и желатина с последующим высушиванием.

Для модельных экспериментов использовали препарат ADH (*Saccharomyces cerevisiae*). Получение препарата фермента путем иммобилизации проводили следующим образом: гель на основе крахмала или желатина смешивали с раствором фермента с последующим высушиванием. Измерение активности иммобилизованного препарата фермента осуществляли спектрофотометрически после добавления сухого диска в реакционную смесь. Иммобилизованная ADH в крахмальный гель (ADH-S) и желатиновый гель (ADH-G) представляла собой сухие диски диаметром 4-6 мм, толщиной 50-60 мкм, с сухим весом $9 \pm 0,5$ мг. Один диск был предназначен для одного измерения.

В результате экспериментов была определена оптимальная концентрация гелей: для крахмального – 3%, для желатинового – 2%. Выбранное время инкубации ADH-S и ADH-G составило 5 минут.

Для ADH-S рН оптимум не изменялся, при диапазоне рН 7-8 активность составляла $\geq 80\%$ предположительно из-за отсутствия взаимодействия с молекулами носителя. Для ADH-G наблюдался сдвиг рН оптимума в щелочную сторону, максимальная активность наблюдалась при рН = 8.5, диапазон рН оптимума (активность $\geq 80\%$) составил 8-8.5. Вероятно, этот эффект обусловлен белок-белковыми взаимодействиями, которые могли приводить к частичному изменению конформации ферментов.

Для ADH-S и ADH-G наблюдалось снижение активности по сравнению со свободной формой ADH при температурах 10-30°C, предположительно, из-за снижения скорости диффузии субстрата к ферменту. Наблюдаемый сдвиг температурного оптимума в сторону более высоких температур (30-40°C), может быть обусловлен стабилизацией молекулы фермента полимерной сеткой геля.

На 21 день активность ADH-S не изменялась, активность ADH-G составила 70% от первоначальной. Полученная стабильность при хранении может быть обусловлена уменьшением молекулярного движения фермента, за счёт процесса высушивания геля.

ФЕНОТИПИРОВАНИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ КАК ПОДХОД ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ ГУАРА

А. К. Гурина¹, Т. Е. Билова^{1, 2}, М. Казантаева¹, Р. Шаухаров³, М. А. Черевацкая¹, А. А. Фролов², М. А. Вишнякова³

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9;

gnastyak0@gmail.com

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276, Москва, ул. Ботаническая, 35

³Всероссийский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова, 190031, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44

Растения гуара (*Cyamopsis tetragonoloba*) представляют собой стратегически важную культуру, поскольку их семена являются источником гуаровой камеди. Ключевое свойство данного полисахарида – формирование гидроколлоидов, устойчивых к замерзанию, – нашло своей применение во многих отраслях промышленности, в особенности, в горнодобывающем деле. Несмотря на то, что гуар является засухоустойчивым растением, различные его сорта демонстрируют генотипически обусловленную вариабельность в отношении чувствительности к дефициту влаги. С этой точки зрения выявление наиболее устойчивых сортов, поиск физиологических и молекулярно-генетических маркеров, обуславливающих данные черты, представляется необходимым для обеспечения стабильного производства камеди.

Для выявления таких маркеров был произведен физиологический и фенотипический скрининг пятидесяти образцов гуара из коллекции ВИР. Образцы были подобраны по принципу репрезентативности генофонда: максимально разнообразные по происхождению, селекционному статусу (сорта народной и научной селекции), габитусу растений и т.п. Исследование таких показателей, как устьичная проводимость, содержание хлорофилла и активность фотосистемы II в комбинации с показателями продуктивности позволило отобрать контрастные по отношению к засухе сорта. Дальнейшие исследования, а именно анализ целого ряда других физиологических параметров, а также получение данных на основе технологий постгеномных исследований (транскриптомики, протеомики и метаболомики), позволят установить определенные молекулярные механизмы и генетические маркеры, потенциально лежащие в основе сниженной чувствительности этих растений к ограниченному поступлению влаги, и, как следствие, стимулировать успешную селекцию новых устойчивых к засухе сортов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта 23-16-00195.

ВЛИЯНИЕ pH-МОДИФИКАЦИИ СЕКРЕТОРНОГО IgA НА АДГЕЗИЮ *ESCHERICHIA COLI* И *LACTOBACILLUS PLANTARUM* К КЛЕТКАМ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Д. А. Гурская, Е. А. Раззорова, Л. Б. Луковникова, Е. Н. Горшкова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dari.gurskaja@yandex.ru

В желудочно-кишечном тракте млекопитающих обитает большое количество бактерий, принадлежащих к сотням различных видов. Имунная система регулирует баланс биоценоза кишечника с помощью антител, в частности, секреторного IgA (sIgA). Секреторный IgA предотвращает адгезию патогенных микроорганизмов к эпителиальным клеткам кишечника и, как следствие, предотвращает инвазию бактерий во внутреннюю среду организма. С другой стороны, sIgA способствует адгезии к рецепторам представителей комменсальной микробиоты, в частности, бифидо- и лактобактерий.

Ранее было показано, что под влиянием буферов с низкими значениями pH изменяется Fab-зависимые функции иммуноглобулинов. Работы продемонстрировали, что кратковременная обработка sIgA буфером с pH 2,6 повышает его аффинность к вирусным антигенам. Далее изучено оказывает ли пребывание sIgA в условиях кислой среды какое-либо влияние на способность иммуноглобулина регулировать взаимодействие комменсальной микробиоты с клетками кишечного эпителия.

На основании этого целью работы явилось исследование влияния обработки секреторного иммуноглобулина A (sIgA) буферами с низким pH (2,6 и 4,0) на адгезию бактерий *Escherichia coli* и *Lactobacillus plantarum* к эукариотическим клеткам Caco-2.

В ходе работы sIgA (Sigma-Aldrich, США) инкубировали с глициновым буфером (pH 2,6 и pH 4,0) в соотношении 1:9 в течение 10 минут. После чего препарат sIgA диализовали при 4°C в растворе PBS (pH 7,4) в течение 48 часов. Нативный и модифицированный sIgA инкубировали с ночными культурами *E. coli* и *L. plantarum*, после чего бактерии добавляли к монослою культуры Caco-2 и выдерживали при 37°C в течение 1 часа. Не прикрепившиеся бактерии смывали раствором PBS (pH 7,4), а клетки Caco-2 лизировали. Полученные суспензии высевали на чашки Петри с агаризованной средой LB (в случае *E. coli*) или Лактобакагар (в случае *L. plantarum*). Культивировали бактерии в течение 24-48 часов при 37°C, после чего оценивали количество колониеобразующих единиц (КОЕ).

В ходе исследования влияния обработки sIgA буферами с низким pH на адгезию кишечной палочки и лактобацилл к эукариотическим клеткам Caco-2 не было выявлено статистически значимых различий в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ) для образцов бактерий, которые инкубировали с нативным и модифицированным секреторным IgA.

Таким образом, обработка sIgA буферами с низким pH не влияет на адгезию бактерий *E. coli* и *L. plantarum* к клеткам эпителия кишечника.

АКТИВАЦИЯ МУТАНТНОГО ОНКОСУПРЕССОРА p53 НОВЫМИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ МОДУЛЯТОРАМИ

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

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
damir.davletshin.98@mail.ru

Опухолевый супрессор p53 – тетрамерный фактор транскрипции, играющий центральную роль в противоопухолевом ответе человека благодаря его регуляции критических генных сетей. Инактивация p53 вследствие появления мутаций является одной из главных причин развития большинства видов раковых заболеваний у человека.

Согласно данным, представленным в базе данных IARC TP53, миссенс-мутации R248W, R273H и R248Q входят в пятерку наиболее распространенных мутаций p53 и локалируются во взаимодействии белок-ДНК или вблизи него и приводят к инактивации p53.

Новые производные индазола, разработанные Матиасом Баудом из лаборатории Университета Саутгемптона (Великобритания), были исследованы в качестве модуляторов активности мутантного p53. Целью данного исследования было изучение биологических свойств производных аминобензотиазола, рассматриваемых в качестве селективных низкомолекулярных стабилизаторов мутантов p53: p53(R248W), p53(R273H) и p53(R248Q).

В ходе исследования были произведены биофизические исследования, а именно измерение сродства (K_d) и кинетики взаимодействия методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR), а также профилирование температурно-зависимой денатурации белка.

Все соединения проявляли взаимодействие с мутантным белком p53(R273H). Равновесные константы диссоциации (K_d) их комплексов находились в микромолярном диапазоне (10-70 мкМ). Соединения JC16 и JC65 также взаимодействуют с мутантным белком p53 (R248W) с K_d 30 мкМ и 44 мкМ соответственно. Однако, согласно полученным данным, белок p53(R248Q) не взаимодействовал ни с одним из анализируемых веществ.

Наибольший температурный сдвиг на 1,3°C был вызван соединением JC16 для белка p53(R273H). Соединение JC65 приводило к повышению температуры плавления мутантного белка p53(R248W) на 0,8°C. Другие соединения не проявляли термостабилизирующего эффекта.

Биологическая оценка экспрессии p53-зависимых генов, а именно BBC3 и p21 показала, что экспрессия проапоптотического гена BBC3 в клетках MiaPaCa и OVCAR3 относительно контроля индуцируется под влиянием соединений JC16 и JC36. Также наблюдается повышение уровня p21 (CDKN1A) после обработки соединениями JC16 и JC36 в клетках SNB19, MiaPaCa и OVCAR3.

Результаты исследования демонстрируют многообещающий подход лечения раковых заболеваний, вызванных мутацией p53, с использованием производных аминобензотиазола специфически нацеленных на мутации p53: R273H и R248W. Тем не менее, необходимы дополнительные исследования для оценки их эффективности в реактивации мутантного p53 в линиях опухолевых клеток.

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

РАЗРАБОТКА ПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОК С ТЕМОЗОЛОМИДОМ ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМ

В. Д. Далинина¹, П. И. Прошин², А. С. Абдурашитов², Г. Б. Сухоруков², В. С. Шашковская^{1,2}, Т. О. Абакумова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, 117513, Москва, ул. Островитянова, 1;

vddalinina@mail.ru

²Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва, Большой бульвар, 30

Темозоломид (TMZ) – алкилирующий агент с цитотоксическими свойствами – часто используется в послеоперационной химиотерапии мультиформной глиобластомы. Одним из преимуществ TMZ является его способность проникать через гематоэнцефалический барьер, однако при приеме перорально или внутривенных инъекциях TMZ достаточно быстро гидролизует до активного иона метилдиазония и неактивного 5-аминоимидазол-4-карбоксамид (AIC). В результате большая часть активного вещества не доходит до опухоли, а повышение дозировки TMZ у пациентов вызывает лейкопению и тромбоцитопению. В качестве решения данной проблемы мы разработали систему локальной доставки: многослойные полимерные пленки из сополимера полимолочной и гликолевой кислот (PLGA), содержащие TMZ, способные постепенно высвобождать активное вещество.

Для печати сеток навеска порошка TMZ (10% от массы полимера) измельчалась в шаровой мельнице с хлороформом в течение часа. Далее в сосуд добавлялся хлороформ и навеска PLGA для получения 10% раствора полимера. Полученную суспензию TMZ в растворе PLGA отбирали в шприц и с помощью автоматического дозатора с ЧПУ формировали сетки. Плотность заполнения пленок составила 50% как для трехслойных образцов, так и для пятислойных. Полученные сетки были просушены в вакуумном шкафу в течение 15 минут при температуре 40 градусов. После изготовления пленок было проведено исследование кинетики высвобождения TMZ в растворе фосфатно-солевого буфера с последующим измерением концентраций TMZ и AIC спектроскопическими методами. Далее было проведено измерение цитотоксичности трехслойных и пятислойных пленок по сравнению со свободным TMZ на клеточной линии мышиной глиобластомы GL261.

Результаты. Согласно полученным данным высвобождение препарата является пролонгированным, но скачкообразным, через 24 часа выходит от 10-29% препарата в зависимости от количества слоев, через 5 дней инкубации остается от 2 до 10% препарата. Анализ цитотоксичности показал, что полимерные пленки обладают меньшей цитотоксичностью по сравнению со свободным TMZ, что скорее всего связано с пролонгированным высвобождением препарата.

Нами были получены полимерные пленки с TMZ для локальной терапии глиомы на основе биосовместимого полимера PLGA. Данные пленки обладали высокой эффективностью загрузки и пролонгированным высвобождением препарата. На основе полученных результатов планируется оптимизировать процесс синтеза пленок с целью увеличения продолжительности высвобождения и при необходимости повышения емкости загрузки активного вещества.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-75-10151.

THE POSSIBLE ROLE OF *BACILLUS SUBTILIS* AND *METHYLOBACTERIUM SP.* AS ENDOPHYTIC BACTERIA IN WHEAT

M. Darkazanli, I. Kiseleva, O. Sinenko

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19;
mdarkazanli@urfu.ru

Introduction:

The endophyte is an endosymbiont that lives within a plant for at least part or whole of its life without causing any disease. Endophytes have been found in all species of plants, but until now the relationships between the endophytes and plants are still not well understood.

Materials and Methods:

The main objectives of our study are inoculating *Bacillus subtilis* and *Methylobacterium sp.* in sterilized wheat seeds and check its ability to promote plant growth and reduce heavy-metal toxicity.

We sterilized wheat seeds by using 70% ethanol for 1 min, 2% and sodium hypochlorite for 2 min.

The sterilized seeds were inoculated with two solutions of *B. subtilis* and *Methylobacterium sp.* at 7.23 log cfu/ml under sterile laboratory conditions.

The second true leaf was used for the evaluation of photosynthesis (CO₂ assimilation rate was recorded by LiCor 6400XT, 23°C, PAR 1500 μmol/m²*s).

To determination of the level of LPO under control conditions and under stress from heavy metals, we prepared a stress solution by adding 0.05M CuSO₄. Then we applied the stress solution to the plant leaves for two hours. The level of lipid peroxidation was measured by the accumulation of TBA-reacting products.

Results:

Our results showed that the level of CO₂ assimilation rate was higher in inoculated plants compared to those grown from control (sterile seeds). Also, it was found that the level of CO₂ assimilation rate was higher in plants that were inoculated by *B. subtilis* 7.2±0.07 μmol CO₂/m²·s⁻¹ than plants that were inoculated by *Methylobacterium sp.* 6±0.05 μmol CO₂/m²·s⁻¹.

The level of LPO was increased under heavy metal stress in all wheat plants, both of which inoculated by bacteria and which grown from sterile seeds, compared to normal conditions, but in control plants were stressed 20% higher than plants which inoculated by the bacteria, and the LPO level under heavy metal stress was lower in plants which were inoculated by *Methylobacterium sp.* than by *B. subtilis*.

Discussion and conclusion:

The photosynthesis rate was higher in wheat which inoculated by *Bacillus subtilis* and *Methylobacterium sp.* than in the control plants. This is due to the high total chlorophyll values. Endophytic bacteria such as *Bacillus sp.* produce phytohormones such as cytokinins, can control of opening and closing of stomata, photosynthetic efficiency, and the supply of essential vitamins, are examples of benefits related to the association between endophytes and plants. Also, can efficiently reduce the HM in the soil by enhancing the phytoremediation efficiency of plants by producing various hormones and enzymes which ultimately result in the promotion of the growth of plants.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА ЭРИТРОЦИТОВ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИЙ ПЕРИОД ЧМТ ПРИ ДЕЙСТВИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

Д. Е. Демидова, М. И. Алексеева, А. В. Полозова, А. В. Дерюгина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
darya.nevskaya2002@mail.ru

Посттравматический период черепно-мозговой травмы (ЧМТ) характеризуется гетерогенностью вторичных повреждений, во многом обусловленный чрезмерной активацией процессов свободнорадикального окисления, нейровоспалением и гипоксией. Поиск эффективных антиоксидантных препаратов остается актуальной задачей терапии посттравматического периода.

Цель исследования – изучение процессов липопероксидации в эритроцитах крыс в посттравматический период ЧМТ при действии молекулярного водорода.

ЧМТ моделировали крысам, путем свободного падения груза на теменно-затылочную область головного мозга. Опытных животных в течение 10 дней ежедневно по 40 мин ингалировали 2% газо-водородной смесью, контрольным животным ингаляцию не проводили. Уровень физиологической нормы оценивали у интактных животных. Окислительный статус клеток определяли по концентрации малонового диальдегида в эритроцитах по реакции с тиобарбитуровой кислотой, активности каталазы по реакции перекиси водорода с солями молибдена и по уровню активных форм кислорода (АФК) с помощью маркера H₂DCFDA методом флуоресцентной микроскопии. Анализ показателей проводили в динамике в течение 14 суток посттравматического периода. Результаты обрабатывали статистически с помощью программ ImageJ, BIOSTAT и Microsoft Excel.

В ходе экспериментального исследования на модели ЧМТ было показано, что острый период ЧМТ характеризовался значительным ростом концентрации МДА на фоне снижения активности каталазы в эритроцитах. Динамика концентрации МДА коррелировала с изменением уровня АФК в эритроцитах ($r = 0.96$). При ингалировании крыс молекулярным водородом с 1 суток посттравматического периода отмечали снижение процессов липопероксидации и повышение активности каталазы с 3 суток посттравматического периода относительно животных контрольной группы. Максимальное уменьшение концентрации МДА сочеталось со снижением АФК в эритроцитах ($r = 0.97$) к 14 суткам исследования до значений интактной группы.

Таким образом, ингаляционное использование молекулярного водорода ограничивало развитие окислительных процессов в эритроцитах в посттравматический период ЧМТ, что, вероятно, определяется непосредственным антиоксидантным влиянием молекулярного водорода, а также может быть связано с системными изменениями в организме, происходящими на фоне уменьшения окислительных процессов и улучшения кислородтранспортной функции крови.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ МОНГОЛЬСКОЙ ЖАБЫ, *STRAUCHBUFO RADDEI* (ANURA, AMPHIBIA) НА СЕВЕРНОЙ ПЕРИФЕРИИ АРЕАЛА (ЗАПАДНОЕ ПРИБАЙКАЛЬЕ)

***Д. А. Деридов*¹, *В. Н. Куранова*¹, *Л. А. Энова*²**

¹Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
mr.deridov2@mail.ru

²ФГБУ «Объединённая дирекция государственного природного заповедника «Байкало-Ленский» и Прибайкальского Национального Парка», 664050, Иркутск, ул. Байкальская, 291Б

Монгольская жаба *Strauchbufo raddei* (Strauch, 1876) – широко распространенный вид в Китае, Корее, Монголии, Пакистане и России. По южному Прибайкалью проходит северная периферия ареала, где экология вида изучена слабо. За последние 20 лет встречаемость вида в Прибайкалье постоянно сокращалась и в 2017-2018 гг. составила 0,4-0,7 ос/ км. Внутри видового ареала демографические исследования с использованием метода скелетохронологии ранее проведены только для популяции *S. raddei* из пустыни Гоби. Цель работы – оценка морфометрических и демографических показателей популяции *S. raddei* на северной периферии ареала (Прибайкалье). Основой исследования послужили фондовые материалы научного отдела ООПТ «Заповедное Прибайкалье» (г. Иркутск), полученные в долине реки Анга в мае – июле 2020 г. Для оценки возраста изготовлено 116 микропрепаратов срезов костей фаланг пальцев 46 особей *S. raddei* разного пола. Окрашивание поперечных срезов фаланг пальцев осуществлено комбинацией гематоксилина Грота и эозина. Для оценки межполовых различий использовали критерии Манна-Уитни, корреляции между длиной тела и возрастом – критерий Спирмена (ρ).

У особей из ангинской популяции *S. raddei* выявлен половой диморфизм по длине тела ($p < 0,05$), что не отмечено ранее в других популяциях. Результаты определения возраста методом скелетохронологии показали, что длину тела нельзя использовать за суррогат возраста. Данный морфометрический признак перекрывается у особей разных возрастных групп и полов. Репродуктивное ядро популяции составляют самцы в возрасте не менее 4 лет (32,6%) и самки не менее 3-5 лет (41,1%). Средний возраст самцов составил 3,96 и самок – 4,2 года. Максимальная зафиксированная продолжительность жизни у самцов и у самок составила не менее 7 лет. За время учётных работ (май – июль) соотношение полов ($\sigma\sigma : \text{♀♀}$) составило 1,17:1, в период нереста – 2,57:1, после размножения, в июле – 0,56:1, что отражает характер сезонной активности особей разного пола. Таким образом, максимальный предельный возраст монгольской жабы, зафиксированный в северной части ареала (Прибайкалье) несколько ниже, чем в центральной – пустыне Гоби (8-10 лет). Это свидетельствует о менее оптимальных условиях существования *S. raddei* на периферии ареала.

ОЦЕНКА КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ КРЫС ПРИ ОСТРОМ БОЛЕВОМ СТРЕССЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПУНКТУРНОЙ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ

Н. В. Диденко¹, П. В. Перетягин^{1,2}, Е. В. Красильникова³, Е. Чуракова³, А. Г. Соловьева^{1,3}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
nata.didenko00@bk.ru

²Поволжский государственный технологический университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3

³ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Известен ряд исследований по изучению адаптационных возможностей инновационных восстановительных технологий, основанных на воздействии низкоинтенсивными электромагнитными волнами микроволнового и инфракрасного диапазонов на точки акупунктуры. Доказано стимулирующее влияние КВЧ- и лазеропунктуры на развитие защитных метаболических, микрососудистых и вегетативных реакций организма в условиях стресса.

Цель исследования: оценка влияния пунктурной фотобиомодуляции на показатели поведенческих адаптационных реакций у крыс в острой фазе экспериментального болевого стресса.

Материал и методы. Исследование выполнено на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 250-300 гр., разделенных на 4 равные группы ($n = 10$). Контролем служили интактные крысы (контроль 1), группа животных с болевым стрессом (двукратное лигирование седалищного нерва до места его бифуркации) «без воздействия» (контроль 2) и группа «placebo» (контроль 3), которые получали имитацию облучения. Животные «опытной» группы сразу после прекращения оперативного вмешательства начинали получать десятидневный курс воздействия лазерным облучателем сертифицированного аппарата «Спектр ЛЦ» (модель 02) с экспозицией на точку акупунктуры (ТА) 3 минуты. Воздействие проводилось контактно в точки «общего» и «местного» действия (GV.14 и BL.37). Крысы тестировались по методике «открытое поле» на арене белого цвета, в стандартных условиях освещенности в течение 5 минут. Регистрировались следующие поведенческие показатели: латентный период первого движения (ЛПО), латентный период выхода в центр (ЛПЦ), количество пересеченных квадратов, количество стоек, общее время груминга и число болюсов.

Результаты. В опытной группе крыс в результате проведенного курса ПФБМ основные показатели страха и тревоги: ЛПО и ЛПЦ существенно снизились, приближаясь к интактным значениям.

Таким образом, воздействие ПФБМ на комбинацию точек «общего» и «локального» действия на фоне болевого стресса достоверно улучшает ориентировочно-исследовательское поведение опытных животных, снижает уровень страха, тревоги и оптимизирует поведенческие показатели крыс по сравнению с контролем, что подтверждает адаптивный механизм саногенетического действия рефлексотерапии.

ПОЛУЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ *OXYCOCCUS PALUSTRIS* PERS. В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

А. А. Дмитриева, О. М. Конюхова

Поволжский государственный технологический университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3;
anastasiya17.2000@mail.ru

Введение растительного материала в культуру *in vitro* во многом определяется качеством стерилизации. Подбор подходящего стерилизующего агента зависит от характеристик экспланта. Чем моложе и нежнее растительная ткань, тем ниже должна быть концентрация стерилизующего агента, чтобы сохранить её жизнеспособность.

В многочисленных исследовательских работах предлагают применять двухступенчатую стерилизацию растительных тканей при введении в культуру *in vitro*. Например, экспланты сначала обеззараживают в этиловом спирте, а потом в растворе детергента. Этиловый спирт часто применяют для предварительной стерилизации, протирая им поверхность материала или полностью погружая растительный материал на несколько секунд.

Цель данной работы – введение в культуру *in vitro* *Oxycoccus palustris* Pers. с применением различных стерилизующих агентов.

На начальном этапе проводили подготовку черенков для дальнейшей стерилизации. На черенках удаляли листья (не повредив почки), поверхность промывали мыльным раствором «Ника» в течение 15 минут и трижды ополаскивали в дистиллированной воде. Подготовленные черенки нарезали на экспланты с 2-3 почками. Все дальнейшие манипуляции осуществляли строго в асептических условиях. Основная поверхностная стерилизация подготовленных эксплантов проводилась двухступенчато, чтобы увеличить процент стерильных эксплантов. Поверхностную стерилизацию, подготовленных эксплантов, осуществляли двухступенчато двумя различными вариантами стерилизации: I вариант – вначале стерилизацию проводили 70% этиловым спиртом при экспозиции 30 секунд, а затем погружали экспланты в 37% раствор пероксида водорода на 3 минуты; II вариант – 70% этиловый спирт при экспозиции 30 секунд и 5% растворе «Лизоформин-3000» в течение 3 минут. После чего микрочеренки (экспланты) трижды промывали стерильной дистиллированной водой и высаживали в пробирки с питательной средой: Мурасиге-Скуга (MS) классического состава с добавлением фитогормона 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л. Кислотность среды (pH) для вересковых культур до автоклавирования доводили до 5,2-5,3; режим автоклавирования – 30 мин при давлении 1,0 атм. Дальнейшая инкубация проводилась в течение двух недель. В культуральной комнате поддерживали следующие условия – температура 23-25°C, фотопериод 16/8 и влажность воздуха 70-75%.

В результате исследования установлено, что наилучшим методом двухступенчатой поверхностной стерилизации клюквы болотной является первый вариант, где показатель асептических жизнеспособных эксплантов составил 95%, по сравнению со вторым вариантом – 0%.

Таким образом, рекомендуемый для стерилизации эксплантов *Oxycoccus palustris* Pers. является первый вариант.

Работа выполнена в рамках гранта программы «УМНИК» ФСРМП в НТС (Фонд содействия инновациям), договор № 17419ГУ/2022.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА ПОКАЗАТЕЛИ КРАСНОЙ КРОВИ КРЫС С МОДЕЛИРОВАННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Ю. А. Дойникова, Д. А. Данилова, А. В. Дерюгина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
julia.doinikova@yandex.ru

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 молекулярного водорода на показатели красной крови крыс с моделированной хронической сердечной недостаточностью.

Исследование проводилось на белых крысах самцах линии Wistar ($n = 30$) массой 270 ± 20 г (SPF виварий ЦГКЛДЖ ННГУ, Нижний Новгород). Моделирование ХСН производилось 3-кратным, через 48 часов, внутривентральным введением адреналина гидрохлорида $0,3$ мг/кг массы тела. Крысы были разделены на 3 группы: 1-я группа исследования ($n = 10$) через 1 сутки после последнего введения адреналина получала ингаляции $2\% \text{ H}_2$ в течение 5 суток; 2-я группа исследования ($n = 10$) получала ингаляции $2\% \text{ H}_2$ однократно (через сутки после последней инъекции); 3-я группа (контроль) не получала ингаляции $2\% \text{ H}_2$. Исследование изменения показателей красной крови крыс проводили с помощью гематологического анализатора «Abacus Junior» 30ND (Diatron, Вена, Австрия). Уровень физиологической нормы определяли у интактных животных. Забор крови производили из подъязычной вены до первой и сразу после последней инъекции, на 1, 3, 7 и 14 сутки после моделирования ХСН.

В результате исследования при формировании ХСН возникали изменения, направленные на снижение количественных показателей эритроцитов, так регистрировалось снижение количества клеток $34,1\%$, гематокрита на $32,88\%$ и общего гемоглобина крови на $22,43\%$. В тоже время отмечалось увеличение объема эритроцита на 16% и повышение количества и концентрации гемоглобина в клетке относительно показателей крови интактных крыс. В группе с повторными ингаляциями H_2 отмечалось снижение объема эритроцитов и концентрации гемоглобина в них к 7 суткам и на 14 сутки достигали значений показателей интактных животных.

Таким образом, многократные ингаляции H_2 влияют на изменение показателей красной крови, что предположительно может быть связано с пролонгирующим действием молекулярного водорода, т.к. с пятых суток ингаляций молекулярным водородом уже не проводилось. Для изучения детальных механизмов данного влияния необходимы дальнейшие исследования.

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННАЯ КЛЕТОЧНАЯ ЛИНИЯ С SAM-АКТИВИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА MYC

Д. С. Долгашева

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634009, Томск, пер. Кооперативный, 5;
normikus.18.97@gmail.com

Введение. Ранее мы показали, что клеточные линии, несущие амплификации двух и более генов стволовости, способны дедифференцироваться с образованием маммосфер. Клеточная линия BT549 имеет амплификацию лишь одного гена стволовости, KLF5, и неспособна к дедифференцировке. С помощью метода CRISPER/Cas9 SAM-активации была получена генетически модифицированная клеточная линия BT549_Myc9 с повышенной экспрессией гена MYC. Согласно нашей гипотезе, ген MYC играет ключевую роль в пластичности опухолевых клеток. А именно, активация MYC помогает опухолевым клеткам сохранять свою пластичность и способность к дедифференцировке. Цель исследования – оценить способность клеток BT-549_Myc9 с SAM-активированной экспрессией гена MYC к дедифференцировке и образованию маммосфер.

Материалы и методы. Клеточные линии BT-549 и 293T выращивали в стандартных условиях в полной среде DMEM/F12, дополненной 10% FBS, 1% GlutaMax. Для создания клонов клеток BT-549 с повышенной экспрессией MYC использовали систему Synergistic Activation Mediator (SAM) на основе CRISPR.

Результаты. Была получена генетически модифицированная клеточная линия BT-549_Myc9, имеющая уровень экспрессии гена MYC в 3 и более раза выше, чем в клетках дикого типа. Активация MYC привела к увеличению скорости пролиферации клеток в 1,2 раза – время удвоения сократилось с 2,3 дней для BT-549 дикого типа и до 2 дней для клеточной линии BT-549_Myc9. Установлено, что клетки дикого типа BT-549 преимущественно являются прогениторными (CD44+CD24+) (93,5±4,1%). После SAM-активации гена MYC доля клеток CD44+CD24+ снизилась до 74,2±7,2%, тогда как доля стволовых опухолевых клеток CD44+CD24-, увеличилась от 2,7±1,9% до 25,8±7,3%. Анализ способности клеток BT-549_Myc9 инициировать вторичный рост опухоли показал тенденцию к увеличению образования маммосфер при стимуляции ИЛ6. Клетки CD44+CD24+, отсортированные из линии BT-549_Myc9, образуют больше маммосфер по сравнению с клетками, полученными из линии дикого типа. Стимуляция ИЛ6 приводит к образованию маммосфер большего диаметра клетками BT-549_Myc9, но не оказывает влияния на маммосферы клеток дикого типа BT-549. Отмечено, что маммосферы BT-549_Myc9 демонстрируют тенденцию к агрегации независимо от добавления ИЛ-6, что может быть связано с ключевой ролью с-Myc в клеточной адгезии. Эксперимент на животных установил, что клетки BT-549_Myc9 могут индуцировать рост опухоли у мышей с иммунодефицитом и показали увеличение скорости роста опухоли по сравнению с родительскими клетками BT-549.

Выводы. Таким образом, сверхэкспрессия MYC в клетках опухоли молочной железы связана с увеличением субпопуляции опухолевых стволовых клеток, это способствует маммосферообразованию и росту опухоли.

Грант Минобрнауки РФ № 075-15-2021-1073.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЦИС-ЭЛЕМЕНТЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В РЕГУЛЯЦИИ ОТВЕТА НА ЭТИЛЕН У *ARABIDOPSIS THALIANA* L.

В. А. Долгих^{1,2}, Е. В. Землянская^{1,2}, В. Г. Левицкий^{1,2}

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

dolgikh@bionet.nsc.ru

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

Регуляция экспрессии генов осуществляется при помощи транскрипционных факторов (ТФ) – белков, имеющих сродство к коротким последовательностям ДНК в регуляторных районах – цис-регуляторным элементам (ЦРЭ). Связывание ТФ с ЦРЭ способно приводить к увеличению или уменьшению уровня экспрессии гена. ЦРЭ отдельного ТФ, как правило, являются вырожденными, и их совокупность обобщается при помощи мотивов.

В клетке экспрессия генов регулируется на нескольких уровнях, среди которых выделяют (1) связывание единичного ТФ со своим ЦРЭ; (2) связывание ТФ с альтернативным ЦРЭ, имеющим отличный от целевого нуклеотидный состав; (3) связывание димеров ТФ с композиционными элементами из двух ЦРЭ; (4) связывание мультимерных комплексов ТФ со сложными цис-регуляторными модулями, состоящими из трёх и более ЦРЭ. Многоуровневость регуляции экспрессии генов затрудняет реконструкцию ее молекулярных механизмов, в то время как потребность в такого рода исследованиях велика.

Интегрированный биоинформатический анализ полногеномных данных, отражающих различные аспекты регуляции экспрессии генов, является эффективной стратегией изучения регуляции экспрессии генов. Примером таких «комплементарных» подходов являются технологии секвенирования транскриптома (RNA-seq) и иммунопреципитации хроматина с последующим секвенированием (ChIP-seq). Потенциал интегрированного анализа данных различных типов до сих пор не реализован полностью. Таким образом, разработка соответствующих программных решений является актуальной задачей.

В данной работе разработан конвейер SFmotif, позволяющий изучать регуляторные механизмы экспрессии генов на уровне отдельных мотивов и композиционных элементов, состоящих из двух ЦРЭ. На основании анализа данных ChIP-seq определяется избыточный список мотивов, представляющих собой сайты связывания изучаемого ТФ и его потенциальных ТФ-партнеров. Привлечение данных RNA-seq позволяет оценивать функциональность найденных мотивов. Мы использовали разработанный конвейер для реконструкции механизмов транскрипционного ответа у модельного растения *Arabidopsis thaliana* на фитогормон этилен, регулируемого ключевым ТФ EIN3. Мы обнаружили, что EIN3 способен связывать четыре альтернативных ЦРЭ, а также имеет ряд потенциальных ТФ-партнёров.

Работа поддержана грантом РФФ № 20-14-00140.

ВЫДЕЛЕНИЯ ОКОЛОУШНЫХ ЯД АМФИБИЙ, АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ, БУФАДИЕНОЛИДЫ, ФАКТОРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СИНТЕЗ И НАКОПЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ

А. Г. Доломанжи

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9;

dolomanjialexandru@mail.ru

Секреты из кожи, а также околоушных желез амфибий представляют собой сложный комплекс различных веществ. Изменение ареала обитания на разных этапах жизненного цикла обеспечивает различные механизмы защиты организма, в том числе и против микроорганизмов.

Эти вещества включают: антимикробные пептиды, алкалоиды, буфадиенолиды, самандарины и др.

На данный момент науке известно около 200 буфадиенолидов, 1200 алкалоидов и более 1200 различных антимикробных пептидов найденных у различных видов амфибий.

Многие из этих веществ обладают антимикробным действием. Количество и общее число антимикробных веществ зависит от множества факторов, таких как: этап развития, межвидовая и внутривидовая конкуренция, диета, среда обитания, микробиота кожи, уровень стресса и другие.

Предполагается, что буфадиенолиды, стероиды, синтезируемые у семейства настоящих жаб *Bufo*, играют важную роль в осмотической регуляции организма и количества веществ увеличивается в случаи уменьшения влаги в окружающей среде.

Регуляция физиологического действия буфадиенолидов может осуществляться путем накопления конъюгированных буфадиенолидов – буфотоксинов. Когда яд секретировается из ядовитых желез, энзиматический катализ трансформирует буфотоксины в буфогенины.

Известно, что буфогенины обладают более выраженным блокирующим действием Na^+/K^+-ATP -азы чем буфотоксины. Есть предположение, что накопление яда в виде конъюгированных буфадиенолидов обеспечивает жабам защиту от самоотравления.

Антимикробные пептиды универсальным механизмом антимикробным действием, заключающийся в образовании пор в мембране микроорганизма, что приводит к нарушению метаболизма и дальнейшей гибели клетки.

Аминокислотный состав и последовательность у антимикробных пептидов различных видов жаб, проживающих в ареалах отдаленных друг от друга в значительной мере схож, можно предположить, что антибактериальное действие буфадиенолидов и антимикробных пептидов, вместе может иметь синергетическое действие.

Изучение факторов окружающей среды, а также различие антимикробного и токсичного действия буфогенинов и буфотоксинов может пролить свет в дальнейшие исследование по созданию наружных форм лекарств при лечении ран и ожогов.

На данный момент экстракция в ультразвуковой бане позволила выявить содержание нескольких буфадиенолидов из секрета околоушных жаб вида *Bufo viridis*. Изучение спектра ультрафиолетового поглощения может указать на содержание нескольких буфадиенолидов, однако для получения большего числа и количества веществ необходимо значительно увеличить выборку и общее количество яда.

Для изучения антибактериальных пептидов амфибий был выбран вид *Bufo bufo*, родственный в. *Bufo gargarizans*, яд секрета кожи которого содержит два антибактериальных пептида.

БЕЛОК LMP 1 – МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МАРКЕР У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА В РОССИИ

В. А. Доманская¹, А. С. Васильева², К. В. Смирнова³

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8;

lera_domanskaya@mail.ru

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, пер. Малый Казенный, 5а

³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, 117513, Москва, ул. Островитянова, 1

Введение: Рак желудка (РЖ) занимает 5 место по распространенности в мире и 3 место по смертности. ВЭБ-ассоциированный рак желудка выявляется у 10% пациентов с диагностированным РЖ. Вирус Эпштейна-Барр представляет собой герпес-вирус, поражающий В-лимфоциты и эпителиальные клетки слизистой оболочки желудка. Он обнаруживается более чем у 95% населения. Вирус в латентном состоянии экспрессирует несколько белков, в числе которых латентный мембранный белок LMP 1, обладающий онкогенной активностью и представляющий особый интерес для дальнейшего изучения влияния ВЭБ на развитие рака желудка.

Цель: С помощью ПЦР выявить LMP 1 у больных с диагностированным раком желудка для характеристики молекулярного профиля онкопатологии.

Материалы и методы: Исследование проведено на 87 образцах ДНК, полученных от пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом РЖ. Работа проводилась над образцами плазмы первичных пациентов из отделения абдоминальной онкологии ФГБУ НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина Минздрава России. Выделение ДНК из плазмы крови проводилось с помощью хлороформ-фенольного метода с последующей амплификацией образцов методом гнездовой ПЦР. Наличие LMP 1 определялось с помощью электрофореза амплифицированных образцов.

Результаты: По результатам исследования, у 29 пациентов из 87 был обнаружен ген LMP 1, что составляет 33,3%. Среди пациентов большинство составляет мужской пол – 62%, что соответствует статистическим данным. Наличие LMP 1 у пациентов с четвертой стадией РЖ – 45%, с третьей стадией – 41%, со второй стадией – 10%, с первой стадией – 0%. Метастазирование у пациентов с обнаруженным LMP 1 наблюдается в 58,6% случаев.

Выводы: Полученные данные показывают значимость выявления молекулярного маркера LMP 1 для характеристики молекулярного профиля онкопатологии, но необходимы дальнейшие исследования с использованием более специфичных методов.

КОМПЛЕКСНЫЕ АНТИФУНГАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ БАЦИТРАЦИНА И ФЕРМЕНТОВ С ЛАКТОНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

М. В. Домнин, А. Г. Асланлы, Е. Н. Ефременко

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва,
Ленинские горы, 1;
ayselaslanli@mail.ru

Поиск эффективно действующих антифунгальных препаратов для подавления роста и развития резистентных клеток дрожжей и микроскопических грибов является сегодня одной из наиболее актуальных научно-практических задач. Возможным подходом к решению данной проблемы представляется комбинированное использование биологически активных веществ, обладающих различным субстратным спектром антимикробного воздействия и проявляющих разный механизм ингибирования в отношении роста клеток дрожжей и микроскопических грибов.

Известно, что резистентность к воздействию антимикробных агентов может формироваться с участием лактон-содержащих сигнальных молекул кворумного ответа (Quorum sensing) не только у грамотрицательных бактерий, но также и у ряда грибных культур (с участием γ -бутиролактона, γ -гепталактона). Ранее было показано, что ферменты гексагистидинсодержащая органофосфатгидролаза (His6-ОРН) и пенициллинацилаза проявляют лактоназную активность в отношении сигнальных молекул кворума грамотрицательных бактерий (N-ацилгомосеринлактонов). С использованием компьютерных методов моделирования межмолекулярных взаимодействий этих ферментов с разными антимикробными пептидами (АМП), было установлено, что комбинирование ферментов с АМП, в частности, с бацитрацином, приводит к заметному улучшению его антибактериальной эффективности действия в отношении различных клеток грамотрицательных бактерий. Вместе с этим была отмечена стабилизация активности самих ферментов в составе таких комплексов.

В данной работе была исследована эффективность комбинирования тех же ферментов (His6-ОРН и пенициллинацилазы) с бацитрацином для получения антифунгальных комплексов и проверки эффективности их действия. Для этого первоначально был проведен молекулярный докинг лактон-содержащих молекул кворума грибов к поверхности молекул His6-ОРН и пенициллинацилазы в присутствии молекулы бацитрацина. В результате комплексы His6-ОРН/бацитрацин были выбраны, как наиболее перспективные, с точки зрения потенциального сохранения каталитической активности фермента в отношении кворумных молекул грибов. Антифунгальная активность бацитрацина отдельно и в комплексах с His6-ОРН была исследована в отношении дрожжевых клеток *Candida tropicalis* и *Saccharomyces cerevisiae*, и для АМП были определены его ингибирующие концентрации.

В результате проведенного исследования впервые было продемонстрировано эффективное действие бацитрацина в отношении клеток дрожжей, как в отсутствие, так и в присутствии фермента. При этом эффективность действия бацитрацина в комплексе с His6-ОРН была значительно выше.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 23-14-00092.

ANTI-INFLAMMATORY AND IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF SITAGLIPTIN, A DIPEPTIDYL PEPTIDASE-4 INHIBITOR, IN HUMAN ANTIGEN-PRESENTING CELL AND T CELL INTERACTION(S) *IN VITRO* MODELS***M. Drakul¹, S. Tomic², M. Bekic², M. Vasiljevic¹, S. Rakocevic¹, J. Djokic³, N. Popovic³, D. Mihajlovic¹, M. Colic¹***¹University of East Sarajevo, 71126, Lukavica, Serbian Republic, Bosnia and Herzegovina, Vuka Karadžića 30;*marijadrakul@yahoo.com*²University of Belgrade, 11000, Belgrade, Serbia, Studentski trg, 1³Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade, 11000, Belgrade, Serbia, Studentski trg, 1

DPP-4, also known as CD26, is a type II transmembrane glycoprotein with a molecular weight of 110 kD. DPP-4/CD26 is expressed in various organs (kidney, brain tissue, lung, liver, gastrointestinal tract, bone marrow), as well as on the surfaces of many cell types such as endothelial, epithelial, stromal, stem cells, and immune system cells (lymphocytes, monocytes, and NK cells). Selective DPP-4 inhibitors (DPP-4i), often known as gliptins, are a relatively new oral antidiabetic agents.

The objectives of this research were to investigate: the cytotoxicity of sitagliptin on a model of human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and dendritic cells differentiated from peripheral blood monocytes (MoDC), to investigate the phenotypic and functional characteristics of MoDC differentiated in the presence of sitagliptin, and to investigate the expression of signaling molecules p65 NF-kappa-B and p38 MAP kinase in sitagliptin-treated MoDCs.

Dendritic cells generated from monocytes (MoDCs) for 4 days using the standard GM-CSF/IL-4 procedure. LPS/IFN- γ treatment for an additional 24 h was used for maturation induction of MoDCs. The cytotoxicity of sitagliptin was determined using apoptosis/necrosis and MTT assays. The morphological and functional properties of MoDC were investigated using flow cytometry, the allogeneic mixed leukocyte reaction test, and cytokine analysis. Western blot analysis has been used to assess the activation of signaling molecules p65 NF-kappa-B and p38 MAP kinase in MoDC treated with sitagliptin.

Sitagliptin was added at the highest non-cytotoxic concentration (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) either at the beginning (sita 0d protocol) or after MoDC differentiation (sita 4d protocol). Sitagliptin suppressed differentiation and maturation of MoDCs, by lowering expression of CD40, CD83, CD86, NLRP3, and HLA-DR, retaining CD14 expression, and inhibiting production of IL- β , IL-12p70, IL-23, and IL-27. In contrast, CD26 expression, tolerogenic DC markers (ILT4 and IDO1), and immunoregulatory cytokine production (IL-10 and TGF- β) were elevated. Sitagliptin-treated MoDCs were poorer allostimulators of T-cells in MoDC/T-cell co-culture, and reduced Th1 and Th17 responses, but promoted Th2 and Treg responses. Tolerogenic features of sitagliptin-treated MoDCs were further validated by an increase in the frequency of CD4+CD25+CD127- FoxP3+ Tregs and Tr1 cells (CD4+IL-10+FoxP3-) in MoDC/T-cell coculture. IL-10+ and TGF- β + Tregs were differentiated depending on the used sitagliptin protocol. Western blot study demonstrated that sitagliptin suppressed p65 expression of NF-kB and p38MAPK during the maturation of MoDCs.

The obtained results indicate that sitagliptin induces differentiation of tolerogenic dendritic cells.

Medical faculty Foca, University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕНЕСЁННОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ

С. Ю. Дрозденко, А. А. Андриянова

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева,
443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34;
s_drozdenko@mail.ru

Для коронавирусной инфекции специфично нарушение когнитивных функций, несмотря на выраженность симптомов заболевания. Имеются достоверные данные, доказывающие когнитивные нарушения у лиц различных возрастных категорий, перенесших COVID-19. Также наблюдается зависимость: чем тяжелее проходило течение болезни, тем более выражен когнитивный дефицит. У пациентов, находящихся на ИВЛ и имеющих хронические заболевания в стадии декомпенсации, отмечалось более быстрое проявление нарушения памяти, чем у лиц, перенесших COVID-19 без осложнений.

Целью нашего исследования являлось изучение влияния перенесенной коронавирусной инфекции на когнитивные функции студентов и взрослых людей. Перед нами стояли задачи: выяснить влияние перенесенной коронавирусной инфекции на объём кратковременной памяти и изучить влияние перенесенной коронавирусной инфекции на различные ритмы ЭЭГ студентов и взрослых людей.

Экспериментальная часть заключалась в регистрации изменений спектральной мощности ритмов ЭЭГ основных частотных диапазонов испытуемых в исходном состоянии и после решения тестов на зрительную и слуховую память. В качестве испытуемых в исследовании участвовало 3 группы людей. 1 группа – здоровые студенты в количестве 20 человек, 2 группа – студенты, болевшие COVID-19 – 22 человека и 3 группа – взрослые, болевшие COVID-19 – 25 человек. Исследование проводилось с помощью прибора нейровизор «NVX 36 digital DCEEG» согласно правилам биоэтики и с письменным согласием участников. Электроды располагались в соответствии с международной схемой «10-20».

В результате проведенного исследования нами было установлено, у студентов и взрослых людей, перенесших COVID-19, объём кратковременной зрительной и слуховой памяти снижается. Также мы выяснили, что спектральная мощность альфа-ритм и дельта-ритма у испытуемых закономерно снижается, а мощность β_1 -, β_2 -ритмов у не болевших студентов снижается, а у болевших имеет тенденцию к снижению, однако у взрослых людей имеет динамику к увеличению. Мощность гамма-ритма у студентов имеет тенденцию к увеличению, а у взрослых людей, перенесших коронавирусную инфекцию носит разноплановый характер. Тета-ритм у здоровых студентов имеет динамику к увеличению спектральной мощности, а у студентов и взрослых людей, перенесших COVID-19 наблюдается неоднозначная тенденция как к увеличению, так и к уменьшению спектральной мощности данного ритма.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И БИОПЛЁНКООБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ШТАММА *BACILLUS GINSENGIHUMI* M 2.11

М. С. Дроздова, Д. Л. Иткина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
rita000.89@yandex.ru

В настоящее время актуальной проблемой является инфекционная заболеваемость сельскохозяйственных культур, вызываемая различными фитопатогенами бактериальной природы. В связи с этим необходим поиск продуцентов, проявляющих антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным микроорганизмам.

Цели исследования: установить антагонистическую активность штамма *Bacillus ginsengihumi* M 2.11 в отношении фитопатогенных бактерий, относящихся к родам *Xanthomonas* и *Pectobacterium*, вызывающих поражения пшеницы, а также зафиксировать способность образовывать биоплёнки.

Определение антибактериальной активности изучали путём совместного культивирования на твёрдой питательной среде. Ночную культуру патогена растили при 30°C 180 об/мин и в объёме 200 мкл (OD = 1; 590 нм) высевали газонем на агаризованную среду LB, затем на газон наносили по 5 мкл ночной культуры M 2.11 (OD = 1). Культивировали в термостате при 30°C, анализ результатов осуществляли через 24 часа. Вокруг колоний M 2.11 были зафиксированы прозрачные зоны угнетения, указывающие на проявление антагонистических свойств в отношении к выбранным патогенам.

Также была изучена способность штамма M 2.11 образовывать биоплёнки. Для этого использовали метод, основанный на способности кристаллического фиолетового связываться с клетками и матриксом биоплёнок. В луночные планшеты вносили ночную культуру штамма по 200 мкл, в течение недели из лунок постепенно отбирали среду с планктонными клетками, затем промывали водой и вносили 0,1% р-р генциан фиолетового. Инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем удаляли краситель, вносили в лунки 95% р-р этанола и измеряли оптическую плотность (OD = 2,438-2,937).

Также определение биоплёнок тестировали методом, основанном на связывании красителя Конго Ред с основным амилоидоподобным белком матрикса. Для этого по 5 мкл ночной культуры M 2.11 высевали на твёрдую среду E, содержащую краситель Конго Ред 25 мкг/мл. Культивировали при 37°C в течение 2 суток, затем окрасившиеся колонии собирали петлёй в эппендорфы со средой LB, центрифугировали и к осаждённым клеткам добавляли 1 мл р-ра Конго Ред, инкубировали 10, 30 и 60 мин соответственно, затем центрифугировали и измеряли плотность супернатантов. Было зафиксировано, что с увеличением длительности инкубирования плотность раствора уменьшалась, что может указывать на наличие амилоидоподобного белка, способного связываться с красителем.

Таким образом, была установлена способность к формированию биопленок у M 2.11, а также зафиксирована антагонистическая активность в отношении фитопатогенных бактерий родов *Xanthomonas* и *Pectobacterium*.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-76-01069).

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КОРОВ ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ И ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

А. А. Дунаевская¹, А. В. Дерюгина², М. Н. Иващенко^{1, 2}, В. А. Петров¹, М. Н. Таламанова²

¹Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97;

nasya1201@bk.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Современные технологии производства продукции животноводства оказывают неблагоприятное влияние на физиологическое состояние и продуктивность животных. Для снижения последствий технологического стресса все чаще проводится немедикаментозная коррекция, в частности фототерапия. Среди методов фототерапии перспективным является применение низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ), которое обладает стресслимитирующими, адаптогенными, антиоксидантными эффектами.

Учитывая особенности технологий промышленного животноводства и связанный с этим риск инфекционных заболеваний, особую актуальность приобретает оценка влияния НИЛИ на состояние иммунной системы животных. Центральным звеном в формировании противoinфекционного неспецифического иммунитета являются фагоцитирующие лейкоциты, в первую очередь нейтрофилы.

Целью работы явилось изучение влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на фагоцитарную активность нейтрофилов коров при технологическом стрессе.

Исследование проведено на высокопродуктивных коровах черно-пестрой породы. Было сформировано шесть групп животных, первая группа являлась интактной, остальные группы подвергались действию технологического стресса, затем опытные группы облучали НИЛИ. Воздействовали НИЛИ в области ушной раковины или холки в течение 5 или 15 минут. Для лазеротерапии применяли автономный лазерный душ «МарсИК» с длиной волны 830 нм в течение 7 суток. Кровь брали из яремной вены до и через 1, 3, 14, 30 суток после технологического стресса утром. Фагоцитарную активность нейтрофилов крови определяли по методу Иванова А.И. (1967). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

Как показали результаты исследований, фагоцитарная активность нейтрофилов после технологического стресса уменьшается в течение первых трех суток эксперимента. При воздействии НИЛИ в области ушной раковины и холки с экспозицией 5 и 15 минут наблюдается повышение фагоцитарной активности нейтрофилов. Наиболее выраженное увеличение активности нейтрофилов наблюдалось при воздействии НИЛИ в области холки в течение 5 минут. К 14 суткам исследования в опытных группах анализируемый показатель фагоцитоза достиг значений контроля. При 5 мин воздействия НИЛИ в области холки показатель фагоцитарной активности нейтрофилов на 3 сутки не отличался от показателя интактной группы.

Таким образом, полученные данные доказывают возможность применения НИЛИ для увеличения показателей неспецифической резистентности коров.

ФОСФАТМОБИЛИЗИРУЮЩИЕ ШТАММЫ *PANTOEA BRENNERI* В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ ДЛЯ НОВЫХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ

Е. А. Егорова, Л. В. Сокольникова, Е. С. Беркутова, Д. С. Бульмакова

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

В сельском хозяйстве актуально применение минеральных удобрений и химических пестицидов. Использование таких агрохимических препаратов приводит к получению большого количества урожая, однако чрезмерное их внесение в почву может приводить к эвтрофикации и загрязнению вод, уничтожению численности растений и негативному влиянию на организм человека. Альтернативой данным удобрениям считает применение биопрепаратов на основе РGP-бактерий (plant growth-promoting bacteria), обладающих рядом полезных свойств, способствующих стимуляции роста и развитию растений.

Целью работы явилось изучение штаммов *Pantoea brenneri* как новых перспективных биопрепаратов. Раннее штаммы *P. brenneri* были выделены из почвы республики Татарстан. Было показано, что данные штаммы обладают множеством РGP-свойств, а также фунгицидной активностью по отношению к фитопотажным микромицетам. Кроме того, в лабораторных условиях *in vitro* нами была показана способность штаммов *P. brenneri* гидролизовать как органические формы фосфора (фитаты), так и широкий спектр неорганических труднорастворимых почвенных фосфатов (апатиты, ортофосфаты, фосфориты). Тем не менее, важно изучение данных микроорганизмов в их естественной среде обитания – почве. Так, мы изучали мобилизацию труднорастворимых фосфатов штаммами *P. brenneri* в условиях почвенных микросомов. Было показано, что исследуемые штаммы обладали способностью к увеличению содержания доступных форм фосфора в почве в среднем на 12-18% (по методу Олсена). Далее проводили оценку жизнеспособности штаммов в почве в течение длительного времени методом почвенных разведений с последующим высевом суспензий на питательный агар и подсчетом колониеобразующих единиц (КОЕ). Для более удобной визуализации колоний в работе были использованы штаммы *P. brenneri*, экспрессирующие флуоресцентный белок (GFP). В результате было показано, что исследуемые штаммы сохраняют свою жизнеспособность в течение всего эксперимента (20 суток). При этом, на 5 сутки наблюдалось 6-8-кратное увеличение числа КОЕ по сравнению с начальной точкой (0 сутки), тогда как на 15 сутки число КОЕ превышало исходное значение в среднем в 3-4 раза. Таким образом, полученные данные в совокупности подтверждают перспективу использования микроорганизмов *P. brenneri* в качестве основы для новых биопрепаратов.

РНФ №23-76-01078.

INVESTIGATION OF THE RHEOLOGICAL AND TISSUE ADHESIVE PROPERTIES OF INJECTABLE CHITOSAN AND ALDEHYDE PULLULAN HYDROGELS FOR DEEP AND IRREGULAR WOUND HEALING

C. N. Elangwe, M. V. Uspenskaya

ITMO University, 197101, St. Petersburg, Kronverksky Pr., 49;
313048@niuitmo.ru

In wound healing, it is essential for a hydrogel to adhere to the tissue to facilitate wound closure and tissue growth in a dynamic environment. However, most injectable hydrogels have poor adhesion to the tissue, limiting their ability to provide effective wound protection. Injectable hydrogels with adhesive properties can effectively fill deep and irregular wounds, especially those with movement, creating a sealed environment to protect wounds and reduce the risk of infection. Additionally, hydrogels with self-healing capacity can automatically repair themselves after mechanical damage, extending their service life and providing better wound protection, especially in critical situations.

This study investigated the impact of aldehyde pullulan concentrations (2, 3, 4, 5%) on the tissue adhesive, self-healing, and rheological properties of the injectable chitosan and aldehyde pullulan (CS/APUL) hydrogel. The chemical modification of the pullulan chain was confirmed by Fourier-transform infrared spectroscopy. The adhesive strength, rheological test, thermal analysis, porosity, and swelling studies of the hydrogels were investigated.

The results showed that the aldehyde concentration significantly influenced the physical, adhesion, and rheological properties of the CS/APUL hydrogel. The findings demonstrated that the hydrogels rapidly formed self-healing scaffolds and exhibited good adhesive strength ranging from 16 to 30 kPa. The adhesive properties of the gel were attributed to the presence of aldehydes and amino groups in the hydrogel. The hydrogels also self-repaired within 10-15 minutes without any external stimulus. Therefore, the synthesized hydrogels have the potential to be used as biomaterials for wound dressings, adhesives, and drug delivery devices.

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБАКТЕРИОЗА НА УРОВЕНЬ ПЕРВИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ

А. А. Еремина¹, Д. М. Кузьмина^{1,2}, Е. В. Архипова², Н. А. Щелчкова^{1,2}, С. В. Трофимова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alya.shilova.02@bk.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Микробиом кишечника является активным продуцентом малых активных молекул, которые могут выступать регуляторами различных внутриклеточных процессов. Показано, что изменение качественного и количественного состава кишечной микробиоты ассоциировано с индукцией продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и развитием окислительного стресса.

Цель работы – изучить влияние экспериментального дисбактериоза на уровень первичных продуктов перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной системы.

Материалы и методы. Самцы половозрелых мышей линии C57Bl/6, $n = 30$ были разделены на интактную группу ($n = 10$), животных с дисбактериозом индуцированным антибиотиками ($n = 10$) и группу, принимавшую метабиотик, состоявший из лакто и бифидобактерий с добавлением бутирата натрия в течение 28 суток после антибиотикотерапии. Моделирование кишечного дисбактериоза осуществлялось заменой питьевой воды на водный коктейль антибиотиков в течение 2 недель. Эвтаназия животных проводилась методом декапитации. Кровь с антикоагулянтом разделяли центрифугированием на сыворотку и эритроциты. Эритроциты отмывали стандартным методом и использовали для изучения содержания диеновых конъюгатов, активности каталазы и СОД общепринятыми спектрофотометрическими методами.

Результаты. Изучение первичных продуктов ПОЛ-диеновых конъюгатов выявило угнетение процесса их образования у животных с экспериментальным дисбактериозом относительно интактной группы на 20% ($0,54 \pm 0,06$ и $0,40 \pm 0,04$ мкмоль/мл, соответственно). Курсовое применение потенциального метабиотика на фоне дисбактериоза привело к активации процессов ПОЛ и двукратному увеличению данного показателя по сравнению с интактными животными и контрольной группы.

Изучение активности ферментов антиоксидантной системы выявило аналогичную динамику. Активность СОД в группе с дисбактериозом изменялась незначительно – на 17% относительно интактной группы, а курсовой прием метабиотика статистически значимо увеличивал активность СОД. Однако, активность каталазы увеличивалась в группе с дисбактериозом на 44% и на фоне приема метабиотика на 40% относительно интактной группы.

Таким образом, в эритроцитах мышей с экспериментальным дисбактериозом обнаруживалось тенденция к снижению уровня активности прооксидантной системы по уровню ДК и антиоксидантного фермента СОД, но повышения уровня каталазы. Курсовое применение метабиотика приводит в активации процессов ПОЛ и ферментов антиоксидантной защиты.

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ НОРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*

А. В. Ермакова, И. О. Вележанинов

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28;
ermakova_a.v@ib.komisc.ru

Изучение малых доз ионизирующего излучения является актуальной задачей радиобиологии, так как эффекты больших доз ионизирующего излучения хорошо воспроизводимы, и современная радиобиология содержит достаточно знаний о действии больших доз ионизирующего излучения на живые объекты. В то же время изучение малых доз ионизирующего излучения сталкивается с отсутствием понимания последствий такого облучения на молекулярно-клеточном уровне, а также из-за сохранения неопределённости в отношении его рисков для человека. Одним из наиболее известных биологических эффектов малых доз ионизирующего излучения является ускорение пролиферации клеток. Многие радиобиологические исследования направлены на изучение немедленных эффектов стимуляции пролиферации клеток малыми дозами ионизирующего излучения, а отдалённые эффекты на пролиферацию и вовсе не изучались.

При совместных исследованиях ИБ ФИЦ КНЦ УрО РАН и Канадских ядерных лабораторий (Canadian Nuclear Laboratories) был обнаружен феномен радиационно-индуцированного замедления клеточного старения фибробластов человека. В повторном эксперименте была проанализирована дозовая зависимость обнаруженного феномена (0, 1, 3, 5, 9, 12, 15, 20, 50, 100 и 200 сГр). Максимальная задержка накопления стареющих клеток в культуре наблюдалась после облучения в дозе 3 сГр в период с 30 по 51 день. Таким образом, был выявлен диапазон малых доз, при котором наблюдался феномен радиационно-индуцированного замедления клеточного старения. Возникает вопрос, а в нашей модели, при тех же условиях стимулируется ли пролиферация? Изучая радиационно-индуцированную пролиферацию фибробластов при помощи метода FMCA, мы обнаружили, что в начале периода проявления эффекта замедления клеточного старения (с 21 по 35 день после воздействия), наблюдалось повышение скорости пролиферации в культурах, облученных в дозах 3 и 5 сГр. В более поздние периоды измерения, вплоть до полной остановки роста культуры, значительные различия не наблюдались. Примечательно, что ускорение пролиферации клеток происходило в тот же период времени после облучения, что и замедление клеточного старения. В совокупности результаты свидетельствуют о том, что облучение фибробластов в указанных малых дозах (3 и 5 сГр) приводит к увеличению их пролиферативного потенциала, то есть клетки делятся быстрее и дольше сохраняют способность быстро делиться.

УВЕЛИЧЕНИЕ СРОКА ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА ПРИ МИКРОИНКАПСУЛЯЦИИ

П. С. Ермакова¹, Е. А. Васильчикова^{1,2}, М. А. Батенькин³, Л. А. Луговая¹, Е. В. Загайнова⁴,
А. В. Кашина¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

bardina-polina@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

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

⁴Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю. М. Лопухина, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а

Введение. Увеличение срока функционирования трансплантата островков Лангерганса (ОЛ) при микроинкапсуляции можно достичь путем создания барьера, который защищает трансплантат от атак иммунной системы и обеспечивает ему необходимые питательные вещества. В данной работе мы тестируем новую капсулу с уникальной комбинацией альгината и полимера (поли-[2-(метакрилоилокси)этил]триметиламмонийхлорид) (ПМЭТАХ).

Цель исследования. Изучение микрокапсул на основе «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с островками Лангерганса, а также оценка возможности применения микрокапсул для продления срока функционирования трансплантата.

Материалы и методы.

Ультроструктура капсул оценена электронной микроскопией. Механические тесты проводились для анализа механической и термической стабильности капсул. Проницаемость оценивалась с использованием FITC-меченых лектинов. Жизнеспособность ОЛ исследовалась с использованием окрашивания Live/Dead, а функциональная активность с использованием ИФА на содержание инсулина. Анализировалась функциональная активность капсул, проведены исследования *in vivo* на крысах с диабетом. Трансплантировали инкапсулированные ОЛ кроликов крысам. Для контроля использовались не леченые животные, а также ксенотрансплантация где крысам трансплантировались ОЛ кроликов для увеличения иммунологического ответа, так и в случае близкородственной трансплантации, между одной линией крыс, для снижения иммунологического ответа.

Результаты.

Исследование подтвердило, что капсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» обладают трехслойной структурой и необходимой избирательной проницаемостью (проницаемы для низкомолекулярных соединений (36 кДа), но не пропускают высокомолекулярные соединения (120 кДа)). Они также устойчивы к деформации под действием осмотического давления и стабильны при контакте с физиологическими средами. После инкапсуляции ОЛ сохраняют жизнеспособность ($86,66 \pm 1,7\%$) и функциональную активность (синтез инсулина $-4,64 \pm 0,29$ мкЕд/мл). Трансплантация инкапсулированных островков снижает уровень глюкозы в крови у крыс с диабетом на 33% по сравнению с нелечеными крысами. Сравнение срока функционирования инкапсулированных ОЛ кролика в крысах (до 3 месяца) со свободными ОЛ кроликов (до 7 дней) показывает, что капсулы защищают от иммунной системы, а сравнение с группой близкородственной трансплантации (до 14 дней) показывает, что ОЛ лучше выживают в капсулах даже при отсутствии иммунной реакции. Капсулы биологически совместимы, не вызывают воспаления и фиброза. Они теряют целостность через месяц после трансплантации, но ОЛ сохраняют свою активность.

Выводы.

Микрокапсулы продлевают срок функционирования ОЛ, но в дальнейшем они могут быть доработаны и стабилизированы для продления срока их целостности.

ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММА *P. PASTORIS*, ПРОДУЦИРУЮЩЕГО ХИМЕРНЫЙ БЕЛОК НОРОВИРУСА И ECHOVIRUS 30

***В. М. Ермолаева*¹, *М. И. Цыганова*², *Д. А. Мелентьев*², *В. А. Ланин*²**

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ermolaeva_veronika01@inbox.ru

²Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603950,
Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Энтеровирусы являются одними из широко распространённых возбудителей заболеваний человека. На территории Российской Федерации заболеваемость энтеровирусной инфекцией характеризуется циклическими колебаниями при тенденции к росту. Среди них наиболее частой причиной развития серозного менингита является инфекция Echovirus 30 (E30). В связи с отсутствием специфической профилактики энтеровирусных инфекций приобретает актуальность разработка отечественных вакцин.

Энтеровирусы – безоболочечные вирусы, вирионы которых имеют форму икосаэдра диаметром 28-30 нм. Геном энтеровирусов представлен одноцепочечной (+) РНК размером 7.2-8.5 т.н. Капсид состоит из четырех структурных белков, VP1-VP4. Внешнюю поверхность формируют VP1, VP2 и VP3, образуя структуры, отвечающие за распознавание рецептора, а VP4 расположен внутри капсида. Известно, что рекомбинантный белок VP1 норовируса человека способен формировать вирусоподобные частицы (ВпЧ). За самосборку ВпЧ отвечает S-фрагмент белка VP1. Химерные конструкции на базе S-фрагмента белка VP1 норовируса могут экспонировать на поверхности ВпЧ чужеродные антигены. В связи с этим целью работы явилось получение штаммов *P. pastoris*, в геном которых интегрирован химерный белок, состоящий из S-домена белка VP1 норовируса, слитого с белком VP3 E30.

В работе использовали штамм *P. pastoris*: Pichia Glycoswitch SuperMan 5-23. Применяли методы электропорации, фенол-хлороформной экстракции, полимеразную цепную реакцию, электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле и дот-блоттинг.

В результате электропорации плазида pPicZA/SN-VP3E30 была интегрирована в геном штамма *P. pastoris*. Затем клетки растили в жидкой среде BMGY (buffered glycerol-complex medium) в течение 24 часов до достижения оптической плотности 1,0, после осаждали центрифугированием и переносили в жидкую среду BMMY (buffered methanol-complex medium). После культивирования клетки снова были осажжены с помощью центрифугирования при 5000 об/мин, 8°C в течение 10 мин. Для проведения ПЦР были выделены нуклеиновые кислоты из каждого исследуемого клона дрожжей. Проведена селекция клонов *P. pastoris* и детекция фрагмента методом ПЦР. В ходе ПЦР нарабатывался фрагмент длиной 1446 п.н., что соответствует длине исследуемого фрагмента. Для подтверждения экспрессии клетками *P. pastoris* исследуемого белка было проведено изучение белкового состава методом дот-блоттинга, в качестве первичных антител были использованы заранее подобранные сыворотки крови человека, содержащие антитела к белку VP1 норовируса. В результате было показано, что клоны 1, 3, 4, 5, 7 экспрессируют химерный белок SN-VP3E30.

Таким образом, в ходе работы был получен штамм *P. pastoris*, продуцирующий химерный белок, в котором S домен белка VP1 норовируса слит с VP3 белком E30 в одну молекулу.

МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА СПЕРМАТОЗОИДЫ БЫКОВ

О. Н. Ермохина¹, М. Н. Иващенко^{1, 2}, А. В. Дерюгина¹, А. И. Ерзутов²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
olya.ermoxina@list.ru

²Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Криоконсервация семени крупного рогатого скота вызывает неблагоприятные изменения в половых клетках, приводит к повреждению морфологических структур сперматозоидов, нарушению биохимических реакций. Для предотвращения негативного воздействия криоконсервации на семя быков нами был предложен молекулярный водород. Однако механизмы реализации положительных эффектов молекулярного водорода на сперматозоиды требуют углубленных исследований его воздействия на внутриклеточные процессы.

Кальциевая сигнализация – неотъемлемая часть системы регуляции функциональной активности сперматозоида; ионы кальция играют ключевую роль в различных посттрансляционных модификациях белков, контролируя их активность. Путем изменения внутриклеточного уровня кальция в сперматозоидах индуцируются основные постэякуляционные процессы сперматозоида: капацитация, гиперактивация и акросомная реакция.

В связи с этим, цель работы – исследование внутриклеточных механизмов влияния молекулярного водорода на функциональные показатели сперматозоидов с использованием ингибиторного анализа. Использовали ингибитор кальциевых каналов верапамил.

Эксперименты проводили *in vitro* на эякуляте быков черно-пестрой породы. Исследовали образцы спермы, разбавленные растворителем «BioXcell», разведенный на водородной воде. Концентрация молекулярного водорода находилась в пределах 1,2-1,5 мг/л, концентрация верапамила 0,1 мг/мл.

Оценивали содержание МДА, АТФ, подвижность, среднюю скорость сперматозоидов. Полученные данные обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel по критерию Стьюдента.

При анализе полученных данных было отмечено, что при действии верапамила на сперматозоиды снижаются показатели фертильности и уровень АТФ в клетках. Совместное влияние молекулярного водорода и ингибитора кальциевых каналов показало аналогичные изменения изученных параметров сперматозоидов, но выявленные изменения были менее выражены относительно данных, полученных при моновоздействии верапамила. Таким образом, можно предположить, что влияние молекулярного водорода на сперматозоиды происходит на нескольких уровнях сигнальной трансдукции, в том числе и через кальциевые каналы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта №23-26-00205.

ДИСФУНКЦИЯ МИТОХОНДРИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

А. А. Ермошина, А. Д. Охальников, А. О. Моторина, М. С. Гавриш, А. А. Бабаев
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ermoshina.aa@yandex.ru

Метаболическая стабильность напрямую зависит от функционирования «энергетической станции» клетки – митохондрии. При болезни Альцгеймера нейрональные клетки испытывают биоэнергетический дефицит, который возникает на ранней стадии заболевания и способствует развитию признаков, определяющих патологию. Поврежденные митохондрии играют фундаментальную роль в патогенезе болезни Альцгеймера, а интерес к роли митохондриальной дисфункции в глиальных клетках при нейродегенеративных заболеваниях стремительно вырос.

Целью работы – охарактеризовать изменения митохондриальной архитектуры и профиля экспрессии генов деления/слияния в астроцитах при моделировании болезни Альцгеймера *in vitro*.

В качестве экспериментальной модели были выбраны мыши линии 5xFAD, которые несут гены человеческих белков APP и PSEN1 с пятью мутациями, связанными с ускоренным амилоидозом. Носители обоих трансгенов были отнесены в группу «FAD», в качестве контроля выступали мыши дикого типа «Wt».

Митохондриальная сеть в первичных астроцитарных культурах анализировалась на 14, 21 и 28 дни культивирования (DIV). Для визуализации митохондриальной сети применяли краситель MitoTracker Green FM, а анализ уровня экспрессии генов, отвечающих за деление/слияние митохондрий, проводили с помощью RealTime PCR.

На 14 DIV не наблюдается различий между исследуемыми группами. Однако, на 21 и 28 DIV митохондриальная сеть с признаками болезни Альцгеймера претерпевает статистически значимые изменения – снижение значений средней площади («Mean Area») и периметра («Mean Perimeter») митохондрий внутри группы «FAD». Согласно показателям «Total Branch Length» и «Mean Branch length», в группе «FAD» наблюдается уменьшение значения связности митохондрий, а к 28 DIV они становятся более округлыми.

Дополнительно была проведена оценка уровня экспрессии генов DRP1, OPA1 и Mfn2. К 21 DIV наблюдается тенденция к снижению экспрессии всех анализируемых митохондриальных генов в группе «FAD», что, связано с замедлением процессов деления и слияния митохондрий и согласуется с результатами морфологического анализа.

Таким образом, митохондриальная сеть в астроцитах, полученных от мышей линии 5xFAD, претерпевает морфологические изменения к 28 DIV: наблюдается уменьшение периметра и площади митохондрий, а также увеличение их сегментированности. Все это свидетельствует о ранней дисфункции митохондрий при болезни Альцгеймера.

Исследование выполнено при поддержке министерства науки и высшего образования РФ (грант № FSWR-2023-0029).

ИЗМЕНЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И ПРОДУКТИВНОСТИ КУКУРУЗЫ ОТ УДОБРЕНИЙ, ЖИДКИХ КОМПЛЕКСНЫХ УДОБРЕНИЙ И РЕГУЛЯТОРА РОСТА

А. П. Еряшев, Т. В. Хныкин

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва, 430005, Саранск, ул. Большевикская, 68;
hnykin1994@mail.ru

Исследователи в разных регионах РФ указывали, что фотосинтетическая деятельность и продуктивность кукурузы зависят от удобрений, жидких комплексных удобрений и регуляторов роста, чему и были посвящены наши исследования в условиях Республики Мордовия.

В 2023 году на опытном поле первичного семеноводства Мордовского НИИСХ был заложен полевой опыт на черноземе, выщелоченном по схеме: 1. Сроки применения жидких комплексных удобрений и регулятора роста (Фактор А). 1.1 В фазе 3-4 листьев; 1.2 В фазе 3-4 + 5-6 листьев; 1.3 В фазе 5-6 листьев. 2. Фон минерального питания (Фактор В). 2.1 Без удобрений (контроль); 2.2 Внесение минеральных удобрений (N128P37K37) под запланированную урожайность зерна 6,2 т/га (Фон); 2.3 Фон + Мегамикс-Профи; 2.4 Фон + Мегамикс-Азот; 2.5 Фон + Альбит.

Нами установлено, что опрыскивание растений жидкими комплексными удобрениями и регулятором роста согласно схемы опыта не оказали влияние на фотосинтетический потенциал (ФП) (2,18-2,19 млн м² • дн./га). Удобрения, «новые агрохимикаты» привели к его увеличению на 8,2-5,8%, по сравнению с контролем (2,07 млн м² • дн./га). Тогда как, последние не повысили этот показатель, в сравнении с удобрённым вариантом (2,24 млн м² • дн./га). При рассмотрении частных различий выявлена аналогичная тенденция при всех сроках использования препаратов. Взаимодействия факторов не наблюдалось.

Сроки использования Мегамикс-Профи, Мегамикс-Азота, Альбита оказали влияние на чистую продуктивность фотосинтеза (ЧПФ). Она преобладала (5,1 г/м² в сутки) при опрыскивании ими кукурузы в фазе 5-6 листьев. Максимальное значение ее отмечено (5,6 г/м² в сутки) с применением Альбита на фоне с внесением туков, что выше контрольного варианта на 30,2% и удобрённого фона на 7,2%. Наибольшее значение данного показателя по частным различиям было (6,0 г/м² в сутки) в этом же варианте в фазе 5-6 листьев. Отсутствовало взаимодействие факторов.

Внесение жидких комплексных удобрений и регулятора роста в фазе 5-6 листьев способствовало увеличению сбора сухого вещества, по сравнению с фазами 3-4 и 3-4 + 5-6 листьев, на 5,7 и 7,5%. Удобрения и «новые агрохимикаты» повышали ее, по отношению к контролю (8,96 т/га) от 0,75 до 3,22%. Последние существенно не увеличили данный показатель в сравнении с удобрённым вариантом (11,54 т/га). Максимальная продуктивность отмечена с опрыскиванием кукурузы в фазе 5-6 листьев Альбитом (13,18 т/га) по частным различиям. Преимущество, по сравнению с контролем, составило 47,2%. Взаимодействие факторов не выявлено.

АКУСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АГРЕГАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Г. В. Жаркова, К. Е. Скотникова, Е. О. Владимирова, А. В. Клемина, Т. А. Веселова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

galekzharckova2014@yandex.ru

Структурное ремоделирование эритроцитов в условиях гиперхолестеринемии может быть связано с накоплением в клеточной мембране холестерина, 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, повышение агрегации и др.) могут свидетельствовать о тяжести гиперхолестеринемии и наличии гипоксических повреждений тканей. Цель представленной работы – оценка агрегации эритроцитов при гиперхолестеринемии различной степени тяжести методом акустической интерферометрии.

Материалами исследования служили образцы крови пациентов с гиперхолестеринемией (50 образцов). В качестве контроля использовали образцы крови практически здоровых доноров (35 образцов). Оценка тяжести гиперхолестеринемии проводили по показателям липидного профиля крови. Содержание общего холестерина, ЛПНП и триглицеридов в крови определяли ферментативными фотометрическими методами с использованием наборов реагентов «Диакон-ДС». Показатели содержания общего холестерина и ЛПНП крови использовали для расчета индекса атерогенности. Исследования агрегации эритроцитов проводили на акустическом анализаторе «БИОМ». Основой прибора является ультразвуковой интерферометр постоянной длины. Для оценки способности эритроцитов к агрегации изучали изменения акустического параметра (АКП) цельной крови в течение 240 секунд.

Информативным показателем тяжести гиперхолестеринемии является индекс атерогенности: значение индекса до 3 позволяет предположить, что прогрессирование атеросклероза сомнительно, 3-4 свидетельствует о высоком риске атерогенеза и ишемии, если показатель атерогенности превышает 5, становится критичным риск развития сердечно-сосудистых патологий.

В образцах крови практически здоровых доноров процесс агрегации эритроцитов достаточно медленный, о чем свидетельствовало снижение АКП крови сразу после начала измерения. Минимальных значений АКП достигали к концу измерения (через 240 секунд). В образцах крови пациентов с гиперхолестеринемией, индекс атерогенности у которых не превышал 3, минимальные значения АКП (начало агрегации эритроцитов) наблюдали через 90-100 секунд после начала измерения, затем наблюдали повышение АКП. В крови пациентов с индексом атерогенности от 3 до 4 начало агрегации эритроцитов наблюдали через 65-90 секунд после начала измерения, при значении индекса атерогенности более 5 начало агрегации эритроцитов наблюдали после начала и до 65 секунд измерения.

Полученные результаты позволяют предположить возможность использования акустических параметров эритроцитов в комплексной оценке тяжести течения гиперхолестеринемии и риска развития осложнений.

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИКРОГЛИИ И СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ У МЫШЕЙ В МОДЕЛЯХ ЛИПОПОЛИСАХАРИД-ИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАРЕНИЯ

О. Г. Заборская¹, И. В. Мухина^{1, 2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

zaborskaya_o@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Микроглия исключительно разнообразна по своим морфологическим характеристикам за счет способности активно изменять форму своих отростков и сомы в ответ на различные стимулы. Таким стимулом может служить попадание в организм инфекционных агентов или травма. Более того, известно, что в пожилом возрасте хронические воспалительные состояния могут стать причиной развития нейродегенеративных заболеваний.

Системное воспаление, вызванное периферической инфекцией, может сопровождаться увеличением продукции как периферических провоспалительных факторов, так и цитокинов в ЦНС. Однако до конца не установлено как спектр реакций микроглии коррелирует с изменением спектра продуцируемых цитокинов при переходе системного воспаления в центральную нервную систему и есть ли связь между этими процессами при старении организма.

Целью данного исследования было выявление особенностей формы микроглиальных клеток и распределения провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в мозге молодых самцов мышей линии C57BL/6 (возраст 4 мес.) после моделирования острого и хронического воспаления и сравнение полученных результатов с показателями физиологически старых мышей (возраст 18 мес.).

В связи с поставленной целью решались следующие задачи:

- приготовление и анализ гомогенатов мозга на содержание провоспалительных маркеров IL-1 β , S100 и противовоспалительного цитокина IL-10;
- маркирование клеток микроглии CA3 области гиппокампа при помощи антител к Iba1;
- анализ цитоскелета микроглиальных клеток в программном обеспечении ImageJ (плагин AnalyseSkeleton);
- анализ формы микроглиальных клеток в программном обеспечении ImageJ (плагин FracLac).

Таким образом, иммуногистохимическое маркирование показало увеличение количества Iba1 положительных клеток и наличие гипертрофической микроглии в гиппокампе у старых животных и у групп с хроническим воспалением. Наиболее сложной формой и наибольшей плотностью характеризовалась только микроглия контрольной группы животных. Одновременно с этим, было выявлено, что стареющая микроглия имеет сходный фенотип с микроглией животных с хроническим воспалением и сходный уровень экспрессии провоспалительных маркеров (S100 и IL-1 β). При этом, группа с острым однократным введением ЛПС отличалась меньшим уровнем биохимических маркеров воспаления, но сохраняла морфологические черты активированного состояния.

Государственное задание №.121030100282-6.

УЛЬТРАСТРУКТУРА СПЕРМАТОЗОИДОВ ТУРБЕЛЛЯРИИ *VORTICEROS IJIMA* (*PLATHELMINTHES, PROLECITHOPHORA*)

Я. И. Заботин

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Yaroslav_Zabotin@rambler.ru

В настоящее время в систематике и филогенетике плоских червей (*Plathelminthes*) наряду с молекулярно-генетическими методами широко применяется морфология сперматозоидов. Пролецитофоры (*Prolecithophora*) выделяются среди свободноживущих плоских червей, известных под собирательным названием «турбеллярии», рядом уникальных особенностей мужских половых клеток, в частности, отсутствием жгутиков и электронно-плотных включений и наличием «складчатых мембранных образований» с до конца не установленной функцией. Однако на данный момент лишь для некоторых видов пролецитофор описаны ультраструктурные особенности сперматозоидов.

В ходе данной работы впервые была исследована ультраструктура сперматозоидов пролецитофоры *Vorticeros ijima* Tozawa, 1918 (*Prolecithophora, Plagiostomidae*). Особи были собраны на литорали о-ва Мукаисима (префектура Хиросима, Внутреннее Японское море, Япония) на песчаном грунте и в смывах с водорослей. Материал был зафиксирован целиком в 1% глутаровом альдегиде на 0,1 М фосфатном буфере и обработан для трансмиссионной электронной микроскопии по стандартной схеме.

Зрелые сперматозоиды *V. ijima* располагаются плотными скоплениями внутри семенного пузыря. Сперматозоид имеет вытянутую веретеновидную форму и достигает 10 мкм в длину и 5 мкм в ширину. Основной объем клетки занимает ядро, имеющее форму спирали. Ядерный хроматин отличается высокой электронной плотностью и фибриллярной структурой, в центральной части ядра заметна электронно-прозрачная кариоплазма, образующая крупные округлые пузыри. На периферии клетки разбросаны многочисленные мелкие митохондрии, часто выстраивающиеся в цепочку. Также в цитоплазме средней части сперматозоида располагаются «складчатые мембранные образования». Они представляют собой густую сеть каналов, обычно расходящихся радиально от центра клетки к периферии. Часто каналы соприкасаются с внутренней клеточной мембраной или с мембраной ядра. Других включений в цитоплазме не обнаружено. Опорный «каркас» спермия образован одним слоем кортикальных микротрубочек, проходящих вдоль всей длины клетки. Аксономы жгутиков полностью отсутствуют.

Вероятно, такие ультраструктурные особенности сперматозоидов пролецитофор, как количество и расположение митохондрий, морфология «складчатых мембранных образований» и их происхождение, могут найти отражение в филогенетике данной группы, однако для подтверждения этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования сперматозоидов и спермиогенеза других видов.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТОВ *EICHHORNIA CRASSIPES* НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ SAKI-1 И HDF
***Е. С. Завершнева*^{1,2}, *А. В. Зубрицкий*², *А. М. Камионская*^{1,2}**

¹Московский политехнический университет, 107023, Москва, ул. Большая Семёновская, 38;
liza.zaversh@yandex.ru

²Институт биоинженерии им. К.Г. Скрыбина ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 5

В настоящее время продолжается поиск и создание новых лекарственных препаратов, в том числе на основе веществ, полученных из растительного сырья. Растения представляются многообещающим источником новых биологически активных соединений, которые можно использовать при борьбе с разными заболеваниями, в том числе с онкологическими. Целью работы является изучение биологической активности этанольного и метанольного экстракта *Eichhornia crassipes* на эукариотических клеточных линиях.

В ходе работы была проведена метанольная и этанольная экстракция из высушенных, измельченных листьев и черешков растения *Eichhornia crassipes* методом дробной мацерации. Соотношение порции экстрагента и исходного сырья составило 1:10 по массе. Добавление экстрагента к сырью осуществлялось 3 раза после фильтрации каждой порции экстракта с периодичностью в 24 часа. Первичный экстракт выпаривался, взвешивался и отправлялся на хранение при температуре -80°C. Полученное вещество перед работой с клеточными культурами растворялось в этаноле или метаноле, в зависимости от изначального экстрагента, центрифугировалось, после чего отбирался супернатант, который был добавлен в лунки планшета с клеточными культурами в соотношениях 200, 100, 50, 25, 12,5 мкг/мл. Клеточные культуры карциномы почки человека (Saki-1) и дермальные фибробласты человека (HDF) перед добавлением экстракта окрашивались сукцинимидиловым эфиром (5,6)-карбоксифлуоресцеина диацетата (CFDA-SE). Культивирование и наблюдение клеток с экстрактом осуществлялось на протяжении 72 часов в автоматизированном клеточном имиджере Celena X, обработка изображений проведена с использованием ПО CellProfiler.

В результате анализа полученных данных о числе клеток и площади, занятой клетками при различных условиях культивирования, были выведены уравнения, описывающие изменение этих параметров. Было выявлено, скорость увеличения количества клеток и занимаемой ими площади отрицательно коррелирует с увеличением концентрации добавленного экстракта (как метанольного, так и этанольного).

Таким образом, метанольные и этанольные экстракты *Eichhornia crassipes* могут оказывать негативное воздействие на пролиферативную активность клеточных линий Saki-1 и HDF, что в перспективе можно использовать в медицинских целях.

МОНИТОРИНГ ЖИЗНЕННОГО СОСТОЯНИЯ ДЕНДРОФЛОРЫ В УСЛОВИЯХ УРБОСРЕДЫ Г. САМАРЫ

А. С. Заика

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева,
443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34;
zaika_anna96@mail.ru

Высоко урбанизированный город, каким является Самара, характеризуется рядом экологических проблем. В решении этих проблем, по мере своих возможностей, нам помогают городские растения. Выполняемые ими функции многообразны и различны: осаждение пылевых частиц, охлаждение и увлажнение воздуха, создание приятного эстетичного вида. Беря на себя «удар» антропогенного воздействия, в городской среде растения раньше стареют, часто имеют угнетенное состояние, требуют большего ухода. В таких условиях важно своевременно принимать решения и иметь план по поддержанию города в безопасном и экологически благополучном состоянии. В докладе об экологической ситуации в Самарской области за 2022 год уровень загрязнения города Самара характеризуется как «высокий».

На трех участках города в 2017 и 2023 году проводился мониторинг жизненного состояния древесных растений. Жизненное состояние оценивали по методике В. А. Алексеева. При обработке данных использовали Microsoft Excel. Деревья были объединены по родам: р. *Betula*, р. *Ulmus*, р. *Picea*, р. *Acer*, р. *Populus*. Получили следующие результаты. Для всех участков характерно ухудшение жизненного состояния березы, что может быть связано с несколькими факторами: это и старовозрастность растений, и подверженность антропогенной нагрузке, и высокие летние температуры в совокупности с недостаточным количеством осадков вегетационного периода. Вяз и тополь показывают улучшение общего жизненного состояния за счет удаления растений 4 и 5 класса из компонента озеленения. Неизменно происходит ухудшение жизнестойкости хвойных, данные показывают увеличение количества мертвых деревьев; присутствуют в настоящее время в насаждении лишь сильно ослабленных и отмирающие растения. На проезде Масленникова деревья подвержены частому и сильному кронированию из-за их расположения под линиями электропередач. Улучшение общего жизненного состояния вяза на участке КРЦ «Звезда» произошло за счет восстановления кроны растений после обрезки.

Исторически до 90-х годов XX века экосистемные услуги зеленых насаждений в урбосреде были представлены в той или иной степени каждой категорией: обеспечивающие (до 50-60 годов), поддерживающие (в меньшей степени), регулирующие (уменьшение роли со временем), культурные (первое насаждение с рекреационной функцией – Струковский сад). С начала XXI века прослеживается тенденция к преобладанию культурной экосистемной услуги для различных компонентов озеленения: при жилом строительстве озеленение теперь представлено газонами, травянистыми растениями, небольшими кустарниками и кустарничками, редко – низкорослыми деревьями. Наблюдается активное выпадение крупномерных деревьев из компонента озеленения по причине старовозрастности, а также проводятся работы по удалению аварийных экземпляров.

ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММОВ *P. PASTORIS*, СОДЕРЖАЩИХ ХИМЕРНЫЙ ГЕН, СОСТОЯЩИЙ ИЗ S-ФРАГМЕНТА VP1 НОРОВИРУСА И VP7 РОТАВИРУСА Д. Е. Зайцев^{1, 2}, Д. А. Мелентьев¹, В. А. Лапун¹, М. И. Цыганова¹, О. В. Морозова¹

¹Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

mitya.zaitseff@yandex.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Наиболее распространённым возбудителем острых кишечных инфекций вирусной этиологии является ротавирус человека (сем. *Reoviridae* п/сем. *Sedoreovirinae*, род *Rotavirus*). По оценкам Роспотребнадзора в 2023 году в Российской Федерации заболеваемость ротавирусом составила 61,7 на 100 тыс. населения. В связи с этим актуальной является разработка вакцин для профилактики ротавирусной инфекции.

Ротавирус является РНК-содержащим вирусом, геном которого состоит из 11 сегментов, кодирующих 12 белков. Одним из носителей антигенных детерминант, антитела к которым нейтрализуют ротавирус, является поверхностный белок VP7.

Ранее сотрудниками лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. Блохиной Роспотребнадзора было показано, что S-фрагмент поверхностного белка VP1 норовируса (SN1) формирует вирусоподобные частицы (ВПЧ) и может служить в качестве платформы, несущей антиген в составе вакцины на основе ВПЧ. Целью работы явилось получение штаммов *P. pastoris*, геномы которых кодируют химерные белки, состоящие из VP7 ротавируса различных геновариантов, слитые с SN1 норовируса (SN1-VP7).

На основе анализа последовательностей кДНК ротавируса различных геновариантов, циркулирующих на территории Российской Федерации, произведён дизайн праймеров, специфичных для VP7, содержащих сайты рестрикции *EcoRI*, *HindIII*, *XhoI* и последовательность из 6 гистидинов. Методом ПЦР получены кДНК рекомбинантных VP7 с 6 остатками гистидина, фланкированные сайтами *EcoRI*, *HindIII* и *XhoI*. кДНК VP7 и плазмиду pPiczA обрабатывали рестриктазами *EcoRI* и *XhoI* и лигировали. Штаммы *E. coli* DH5α химически трансформированы лигазными смесями из фрагментов pPiczA и VP7. Штаммы *E. coli* DH5α, содержащие pPiczA с генами VP7 (pPiczA-VP7), отобраны для выделения плазмид.

Плазмиды pPiczA-SN1 и pPiczA-VP7 обрабатывали рестриктазой *HindIII*. Лигирование линейных форм pPiczA-VP7 и SN1 и трансформацию *E. coli* DH5α осуществляли с помощью методов, описанных выше. В ходе селекции клонов для выделения плазмид отобраны штаммы *E. coli* DH5α, содержащие pPiczA с генами SN1-VP7 (pPiczA-SN1-VP7).

С помощью секвенирования по Сенгеру определены последовательности химерных генов SN1-VP7. Последовательности клонированных генов VP7 сравнивали с представленными в базе данных GenBank для определения генотипа VP7. С использованием филогенетического анализа установлено, что клонированные гены относятся к генотипам G2, G4, G8 и G9 ротавируса человека.

Плазида pPiczA-SN1-VP7[G9] интегрирована в геном *P. pastoris* методом электропорации. Методом ПЦР проводили селекцию клонов *P. pastoris*. В ходе ПЦР нарабатывались фрагменты, соответствующие расчётной длине химерного SN1-VP7.

Таким образом, в ходе работы были определены генотипы клонированных генов VP7 и получены штаммы *P. pastoris*, в геном которых интегрирован химерный ген SN1-VP7.

АНАЛИЗ МАРКЕРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАММА *LISTERIA MONOCYTOGENES* АУФ

С. С. Зайцев, Н. В. Кичемазова, Ю. В. Салтыков, Д. Г. Оглодина, О. С. Ларионова, В. А. Федорова

Вавиловский университет, 410012, Саратов, просп. им. Петра Столыпина, 4;
feodorovav@mail.ru

Listeria monocytogenes (*Lm*) – факультативные внутриклеточные бактерии, возбудители листериоза – зооантропонозной инфекции, характеризующейся полиморфизмом клинических проявлений, хотя чаще всего она протекает с признаками поражения центральной нервной системы, репродуктивных органов, септицемии, а также в форме бессимптомного носительства. Высокая метаболическая пластичность листерий наряду с такими их характеристиками, как убиквитарность, термотолерантность, психрофильность играют важную роль в контаминации и массивном размножении листерий в течение технологического процесса производства и хранения пищевых продуктов, что представляет серьезную угрозу безопасности пищевой продукции. Профилактика листериозной инфекции в секторе животноводства в РФ включает комплекс ветеринарных, санитарно-гигиенических мероприятий, контроль качества кормов, а также проведение вакцинации сельскохозяйственных животных (СХЖ) с использованием живой листериозной вакцины на основе аттенуированного штамма *Lm* АУФ.

Целью работы явилось выявление и характеристика генов «вирулентности», ответственных за остаточную вирулентность вакцинного штамма *Lm* АУФ с применением методов биоинформатики.

Полногеномное секвенирование ДНК штамма *Lm* АУФ проводили на платформе Illumina HiSeq 2500, сборку и аннотацию генома – методом *de novo*, мультилокусное типирование (MLST) – путем сравнительного анализа сцепленных фрагментов семи генов домашнего хозяйства (*abcZ*, *bglA*, *cat*, *dapE*, *dat*, *ldh*, *lhkA*) по схеме, указанной в международной базе BIGSdb-*Lm* (<https://bigsdb.pasteur.fr/listeria/>). Подготовку библиотек осуществляли по стандартным протоколам, представленным на сайте производителя. Сборку контигов производили с использованием ассемблера Unicycler, оценку качества выполняли с использованием QUAST. Гены устойчивости к антибиотикам идентифицировали с помощью базы CARD.

В результате секвенирования было получено 59 480 744 прочтений общим объемом более 8 Кб. Средняя длина прочтений не превышала 75 bp. В составе сборки оказалось 10 контигов общей длиной 2844259 bp, размер наибольшего контига составил 1471985 bp, соотношение GC (%) – 37,89. Согласно данным MLST-типирования, штамм *Lm* АУФ принадлежал к II генетической линии, клональному комплексу 124 (CC124), сиквенс типу 124 (ST124). В геноме штамма *Lm* АУФ было выявлено 48 из 92 известных генов вирулентности (Moura et al., 2016), в том числе, кодирующих интернарины А, В, С2, D, G, H, J, K и листериолизин О, 5 генов, ассоциированных с резистентностью к антибиотикам (*fosX*, *mprF*, *lin*, *porB* and *sul*), 2 острова патогенности LIPI-1 и LIPI-3, а также 26 генов, детерминирующих подвижность у листерий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-16-00165.

ЭЛЕМЕНТЫ И АНТИОКСИДАНТЫ У ДИКОГО КАБАНА (*SUS SCROFA* L.) НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ

И. А. Зайцева¹, С. Н. Калинина¹, В. А. Илюха², Д. В. Панченко¹, И. В. Баишникова¹, Е. П. Антонова¹

¹Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11; ira.irmita@yandex.ru

²Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Борок Ярославской обл., 106

Геохимические особенности региона и антропогенная нагрузка могут влиять на содержание как эссенциальных, так и токсичных элементов в организме диких животных. Незаменимые элементы (Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn и Ni) необходимы для многих физиологических процессов, тогда как токсичные металлы (Cd и Pb) являются загрязнителями окружающей среды. Животные усваивают из своего рациона как необходимые, так и токсичные элементы. Характерной особенностью токсичности металлов является нарушение работы ферментных систем и индукция окислительного стресса. Комплекс антиоксидантов поддерживает окислительно-восстановительный баланс и минимизирует нежелательные повреждения клеток. Дикий кабан подходит для использования в качестве биомонитора из-за его широкого распространения и особенностей пищевого поведения. Северная граница ареала обитания кабана проходит на северо-западе России, поэтому для исследования был выбран этот район.

Цель этой работы состояла в определении элементного статуса (Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni и Zn, Cd и Pb) дикого кабана (*Sus scrofa* L.), обитающего на северо-западе России; в изучении взаимодействий между элементами и антиоксидантами; а также в оценке пригодности мяса и субпродуктов кабана для употребления в пищу.

Для анализа были взяты образцы тканей почек, печени и мышц задних конечностей 20 кабанов (10 самцов и 10 самок, масса тела 23-90 кг), добытых в Республике Карелия в период охоты с августа по декабрь 2018 года. Элементы измерялись методом атомно-абсорбционной спектроскопии, оснащенной графитовой печью. Активность антиоксидантных ферментов измеряли методом спектрофотометрии. Содержание α -токоферола и ретинола определяли методом ВЭЖХ. Статистический анализ проводился с использованием Statgraphics 5.0

Распределение элементов по тканям различалось: уровни Cd и Cu были наиболее высокими в почках; Fe и Mn – в печени, а Zn – в мышцах. Согласно референсным значениям элементов, установленным для домашних свиней, кабан северо-запада России испытывал дефицит большинства основных элементов (Co, Cu, Mn, Ni, и Zn). Концентрации Cd и Pb были ниже значений, о которых сообщалось в исследованиях на свиньях и диких кабанах, обитающих в районах мира с высокой антропогенной нагрузкой. Обнаружены положительные корреляции в печени между Cd и Co, Co и Cu, Cu и Mn, уровнем глутатиона и активностью каталазы, а также в почках между Co и Pb, Cu и Mn. Уровень Fe в мышцах отрицательно коррелировал с активностью супероксиддисмутазы.

Оценка пригодности мяса и субпродуктов кабана в качестве продуктов питания показала, что ввиду содержания токсичных элементов потребление мяса и печени на редкой (до 4 раз в год) или регулярной основе (ежемесячно) не представляет риска для здоровья взрослых и детей, однако почки для употребления не подходят.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-10001, <https://rscf.ru/project/23-24-10001/>, проводимого совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК).

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ БАКТЕРИОФАГОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ИЗ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ

Н. Д. Закарова, В. Н. Ильина, Е. Ю. Тризна, А. Р. Каюмов

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

Известно, что *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae* являются грамотрицательными условно-патогенными микроорганизмами, способными вызывать смешанные инфекции, приводящие к тяжелой пневмонии. Данные патогены ВОЗ причислил в группу бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, что дополнительно усугубляет терапию данных заболеваний. Поэтому в настоящее время остро стоит необходимость поиска и исследования альтернативных методов борьбы с данными патогенами для разработки эффективной противомикробной терапии. Одной из таких альтернатив является использование фаговых коктейлей, содержащих в себе смесь бактериофагов, направленных против нескольких патогенов.

Целью данной работы явилось получение бактериофагов из природных водоемов, способных лизировать бактерии *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*.

Источником для получения бактериофагов служила вода, собранная из озера Средний Кабан г. Казань, которая подвергалась последующей фильтрации и инкубированию индивидуально в насыщенной среде, содержащей бактериальные клетки. Для получения чистого фаголизата без бактериальных клеток проводили дополнительную очистку суспензии при помощи хлороформа и мембранных фильтров. Далее проводили идентификацию бактериофагов и оценивали их вирулентные свойства в отношении тестируемых штаммов микроорганизмов с использованием метода Отто («метод стерильной дорожки») на двухслойном агаре. Так, на средах, на которых отдельно выращивались клетки *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* были получены отчетливые зоны лизиса, что доказывает присутствие в водоеме бактериофагов, способных инфицировать данные патогены.

Таким образом, нами были выделены бактериофаги, лизирующие клетки *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*, под условными названиями *Pseudomonas phage* и *Klebsiella phage*, которые в дальнейшем могут рассматриваться как составные компоненты новых антибактериальных препаратов.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАНТОВ КАРТОФЕЛЯ И АНАЛИЗ УСЛОВИЙ И ФАКТОРОВ, НАИБОЛЕЕ БЛАГОПРИЯТНЫХ ДЛЯ ЕГО РЕГЕНЕРАЦИИ

Д. А. Занегина, А. А. Печёрина, А. А. Брилкина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
darazanegina@gmail.com

Картофель – важная незерновая продовольственная культура в мире, более миллиарда человек употребляют картофель в качестве основного продукта питания и поэтому его культивируют в промышленном масштабе. В связи с этим важной задачей исследователей является выведение новых, более продуктивных и устойчивых к заболеваниям сортов картофеля. Для этого требуется использование технологий ускоренного размножения, прежде всего – микрклонального размножения. Для оптимизации этого метода важна быстрая регенерация побегов, на которую могут влиять как состав среды, в том числе агар и фитогормоны, так и освещение и материал культуральной посуды (стекло или пластик), а также сортовая принадлежность растений картофеля.

Целью работы было выявление наиболее благоприятных условий для регенерации *in vitro* картофеля разных сортов.

Работу проводили на стерильных растениях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) нескольких сортов: «Невский», «Ирбитский», «Ривьера», «Мадейра» и «Максимум». В качестве эксплантов для регенерации использовали части стебля без почек размером по 4-5 мм. Экспланты помещали на агаризованную питательную среду Мурассиге и Скуга (МС) с использованием агара разных производителей (Агар-агар бактериологический американский тип (1) и агар бактериологический, Испания (2)) и дополненную различными концентрациями ауксинов и цитокининов: БАП 5, 3 или 1 мг/л, ИУК 0,5 или 0,1 мг/л. Культивирование эксплантов проводили на свету (освещение интенсивностью 90 мкмоль квантов/м²·с, фотопериод – 16/8 ч) или при затенении в стеклянных или пластиковых чашках Петри. Длительность периода инициации каллусов (0 пассажа) и следующих пассажей – 4 недели. По окончании каждого цикла культивирования проводили анализ регенерации побегов картофеля из каллусов (процент каллусообразования, количество регенерантов, количество образовавшихся побегов и корней).

Выявлено, что частота каллусообразования выше у сортов «Невский» «Ривьера» и «Ирбитский» при культивировании на питательной среде с концентрацией фитогормонов 3 мг/л БАП / 0,5 мг/л ИУК. Частота каллусообразования на агаре (2) была выше (26,6%), чем на агаре (1) (1,7%). Пересадка регенерантов на свежую питательную среду благоприятствует закладке побегов и увеличению их количества вдвое (41,6%) по сравнению с образованием побегов на нулевом пассаже (20,4%). При перестановке чашек с регенерантами в условия пониженного освещения уже через 5-10 дней наблюдается появление побегов. Отметим, что в пластиковых чашках Петри образование побегов происходит активнее, чем в стеклянных чашках. Таким образом, наиболее благоприятными для регенерации являются концентрация фитогормонов 3 мг/л БАП / 0,5 мг/л ИУК на среде МС, культивирование в условия затенения, пересадка регенерантов на свежую питательную среду и использование пластиковых чашек Петри.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ИНТЕГРАЦИЯ ПРОГЕНИТОРНЫХ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ЗРЕЛУЮ СЕТЬ ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

М. С. Заозерский¹, М. С. Землянсков¹, А. А. Гладков^{1,2}, Я. И. Пигарева^{1,2}, В. Н. Колпаков^{1,2}, И. В. Мухина^{1,2}, В. Б. Казанцев^{1,2}, А. С. Пимашкин¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгоро, просп. Гагарина, 23;
matvey.zaozerskiy@mail.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Для восстановления поврежденной нервной ткани в будущем может быть применена интеграция биосовместимых и биоразлагаемых каркасов, которые повторяют структуру поврежденного участка, с нейрональными клетками внутри. Для обеспечения правильного восстановления утраченных в результате травмы функций нейронной сети необходимо учитывать то, что интегрированные клетки должны быть совместимы с клетками мозга и то, что интегрированные клетки смогли правильно развиваться и заместить собой поврежденный участок. Для моделирования процесса развития интегрированных клеток можно использовать технологию микрофлюидных чипов.

Целью данной работы было изучение функциональной интеграции прогениторных клеток в зрелую сеть первичных клеток. Для этого использовался микрофлюидный чип с тремя камерами: А, В, С, камеры которого соединялись последовательно шестнадцатью однонаправленными микроканалами. Микроканалы между камерой А и В были длиной 430 мкм состояли из двух треугольных секций, микроканалы между камерой В и С были длиной 600 мкм и состояли из одной треугольной и двух широких секции с ловушками для отростков из камеры С. Во время эксперимента культивировались два типа культур – E18E13 и E13E13. Культуры высаживались на мультиэлектродную матрицу. Для культур E18E13 в камеры А и С загружали первичные клетки коры головного мозга эмбриона E18, то есть эмбриона восемнадцатого дня развития. Затем, после нескольких дней развития, загружали в камеру В прогениторные клетки коры эмбриона E13 – эмбриона на тринадцатый день развития. Для культур E13E13 сразу во все три камеры загружали прогениторные клетки коры E13. Через пятнадцать дней развития каждые пять дней проводилась регистрация спонтанной активности культур E18E13 и E13E13, которые затем сравнивались по характеристикам, чтобы выявить какое влияние оказывает на клетки E18 посадка более молодых клеток E13.

В результате было установлено, что спонтанная электрическая активность у первичных клеток и прогениторных клеток значительно отличались: продолжительность пачек и количество импульсов в пачках больше у прогениторных клеток, преимущественно во всё время развития. Влияние ниши первичных нейрональных клеток E18 на развитие прогениторных интегрированных клеток E13 наблюдалось до 20 дня.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда в рамках научного проекта №21-75-10154.

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ 12 ВИДОВ РОДА *DROSOPHILA* *Н. В. Земская, А. А. Москалев*

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28;
kukushonok90@yandex.ru

Продолжительность жизни (ПЖ) – комплексный количественный признак, вносящий определяющий вклад в дарвиновскую приспособленность. Среди множества факторов, ограничивающих продолжительность жизни, только старение является внутренней причиной. Недостаток большинства современных исследований биологии старения в том, что генетические сравнения проводят между эволюционно далеко отстоящими друг от друга видами и многие выявленные гены, связанные со старением, могут иметь лишь отдаленное отношение к проблеме. В то время как исследование нескольких эволюционно близких видов может выявить как уникальные, так и универсальные механизмы формирования генетического разнообразия и обусловленного им различия в стрессоустойчивости и продолжительности жизни.

В настоящей работе изучали 12 близкородственных видов рода *Drosophila* (*D. ananassae*, *D. austrosaltans*, *D. biarmipes*, *D. erecta*, *D. kikkawai*, *D. melanogaster*, *D. pseudoobscura*, *D. saltans*, *D. simulans*, *D. virilis*, *D. willistoni*, *D. yakuba*), которые сформировались в различных условиях обитания. Оценивали продолжительность жизни и возрастную динамику плодовитости самок на стандартной питательной среде и на питательной среде с удвоенным содержанием дрожжей, а также исследовали влияние стресс-факторов различной природы (гипертермия, голодание, γ -излучение в дозе 864 Гр, действие прооксиданта параквата) на выживаемость дрозофил, после чего анализировали взаимосвязь ПЖ с характеристиками жизненного цикла (длительность предимагинального развития, масса тела имаго, фекундность) и стрессоустойчивостью.

Выявили, что наибольшей медианной и максимальной ПЖ характеризуются особи *D. virilis*, а наименьшей – самцы *D. kikkawai* и *D. biarmipes*. Наиболее устойчивые ко всем видам стресса оказались долгоживущие особи *D. virilis* и *D. saltans*, а наименее устойчивы – короткоживущие *D. kikkawai*. В то же время, долгоживущие особи *D. virilis* были наиболее чувствительными к воздействию острого γ -излучения, а самыми устойчивыми к данному виду воздействия были особи *D. saltans* и *D. simulans*. Различия в максимальной ПЖ разных видов часто связаны с различиями в скорости метаболизма, метаболическом потенциале и уровне окислительного стресса. Было показано, что длительность предимагинальных стадий развития самок имела положительную корреляцию с максимальной ПЖ. Известно, что длительность личиночной стадии развития дрозофил определяет конечные размеры тела имаго, у исследованных нами видов дрозофил наблюдали высокую положительную корреляцию максимальной ПЖ со средней массой тела. Кроме того, наблюдали отрицательную корреляцию медианной ПЖ и средней яйцепродукции. При этом наблюдали положительную корреляцию между максимальной ПЖ и устойчивостью к неблагоприятным воздействиям, как у самцов, так и у самок.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геронпротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*» (№ 12204060022-1).*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ МОНИТОРИНГА ТОКСИЧНОСТИ РАСТВОРОВ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ И ИХ ДЕТОКСИКАЦИИ ПУТЕМ СИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА

А. В. Зеньков

Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, просп. Свободный, 79;
andrei.zenkow222@yandex.ru

Одной из задач экологической биотехнологии является биоремедиация. В частности, микроорганизмы могут уменьшать концентрацию токсичного селенита натрия (Na_2SeO_3) путем биосинтеза нерастворимых наночастиц селена. Одним из инновационных подходов в биоремедиации может стать создание полифункциональных бактериальных биопрепаратов, которые могут одновременно использоваться для (1) количественной оценки токсичности водной среды, (2) детоксикации этой среды и (3) биосинтеза наночастиц селена в результате восстановления селенита до элементарного селена. Наночастицы селена имеют потенциал для применения в фармакологии, пищевой промышленности и электронике.

Биофизические методы мониторинга окружающей среды включают в себя использование биолюминесцентного анализа с применением бактериальных биотестов и ферментативной системы люциферазы и NADH:FMN-оксидоредуктазы. Одним из таких примеров таких биотестов являются морские люминесцентные бактерии *Photobacterium phosphoreum*. Интенсивность биолюминесценции использовалась в качестве физиологического параметра при определении токсичности среды. Ферментативная система использовалась для оценки возможных механизмов действия селенита на биолюминесцентную реакцию. Проводили мониторинг интенсивности свечения бактерий в присутствии Na_2SeO_3 при концентрациях 10^{-8} - 10^{-1} М. Содержание активных форм кислорода (АФК) определяли хемилюминесцентным методом. Наличие, форма и размеры наночастиц определялись методами просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии.

Наблюдали увеличение интенсивности свечения в диапазоне концентраций 10^{-7} - $5 \cdot 10^{-4}$ М, а также увеличение содержания АФК относительно контроля. Токсический эффект селенита наблюдался при действии селенита в концентрациях 5, 25, 100 мМ Na_2SeO_3 . Вероятно, образование АФК сопряжено с метаболизмом селенита натрия в бактериях, в ходе которого образуется элементарный селен. Именно при этих концентрациях происходит биосинтез наночастиц селена. При инкубировании бактерий с селенитом в течение 24 часов наблюдали покраснение суспензии, что указывает на наличие элементарного селена. Методы электронной микроскопии выявили образование наночастиц, которые имели округлую форму со средними размерами 50-60 нм.

Таким образом, биолюминесцентные бактерии потенциально могут быть полезны в качестве основы для полифункционального препарата. Требуется дальнейшее изучение интенсивности свечения в процессах биотрансформации селенита на более длинных промежутках времени.

ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ СТЕПНЫХ РАСТЕНИЙ

К. Ю. Зиновьева¹, Е. М. Мартынова¹, П. А. Бурова¹, А. Е. Филонов², Т. О. Анохина², В. В. Кочетков, Е. В. Акатова¹, Е. М. Волкова¹

¹Тульский государственный университет, 300012, Тула, просп. Ленина, 92;
ksyu.zinoveva.03@bk.ru

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 5

Восстановление степных сообществ имеет важное значение не только для сохранения биологического разнообразия, но и для восстановления почвенного плодородия, являющегося «депо» углерода. Такие эксперименты в течение 20 лет проводятся на территории музея-заповедника «Куликово поле» (Тульская область). Однако для увеличения запасов углерода в почве необходимо увеличение фитомассы сообществ агростепей. Одним из способов фитостимуляции является применение химических и биологических препаратов. В качестве химических препаратов применяли Лигногумат (Россия ООО «НПО «РЭТ» ОГРН, Ленинградская обл.) и Стимунол (Россия ООО «Экопроект-НТ», Воронежская обл.) (2.0 мл/л и 1.0 мл/л соответственно). Биологические препараты на основе фитостимулирующих бактерий родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas* были получены в лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН (г. Пушкино). Численность штаммов *R. qingshengii* F2-2, *P. Soli* G24, *P. putida* O9-10, *P. chlororaphis* BS1393 в рабочей суспензии для обработки растений составляла около 106 КОЕ/мл. Указанными препаратами обрабатывали участки агростепей (разнотравно-ковыльное сообщество, сформированное в 2009 году посевом семенных смесей) площадью 100 кв. метров. Обработку проводили 20.05.2023 г.

Влияние препаратов оценивали по содержанию фотосинтетических пигментов как основных показателей потенциальной продуктивности растений, в листьях хатмы тюрингенской (*Lavatera thuringiaca*), ковылей красивейшего (*Stipa pulcherrima*) и перистого (*Stipa pennata*). Листья были отобраны 10.09.2023 г. Содержание пигментов определяли в спиртовой вытяжке спектрофотометрическим методом.

Результаты показали, что под воздействием Стимунола в листьях хатмы тюрингенской содержание хлорофилла а увеличилось на 9% (по сравнению с необработанным участком). В листьях ковыля перистого содержание хлорофилла а увеличилось на 71%, а у ковыля красивейшего – на 117%. Под воздействием Лигногумата содержание хлорофилла а увеличилось только в листьях ковыля красивейшего (на 7.5%).

Среди биологических препаратов наиболее эффективным оказался штамм *P. chlororaphis* BS1393 – увеличение содержания хлорофилла а отмечено у ковылей красивейшего и перистого (на 114% и на 74% соответственно).

Сравнение влияния химических и биологических препаратов показало, что для увеличения фитомассы сообществ агростепей эффективным является такой химический препарат, как стимунол. Среди биологических препаратов рекомендуется использовать бактериальную культуру на основе штамма *P. chlororaphis* BS1393.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ШИРОКОПОЛОСНЫХ ИНДЕКСОВ ОТРАЖЕНИЯ ПРИ РАСПРОСТРАНЕНИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ У РАСТЕНИЙ

Ю. А. Золин, Л. М. Юдина, В. С. Сухов, Е. М. Сухова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
uchebnayap.zolin@gmail.com

Анализ узкополосных индексов отражения является эффективным способом выявления изменения состояния растений при действии неблагоприятных факторов. В то же время, измерение таких индексов требует использования сложных и дорогостоящих систем (гипер- или мультиспектральные камеры). Для повышения доступности оптического мониторинга состояния растений могут быть использованы более простые RGB-камеры, однако их применение требует развития методов анализа индексов отражения, основанных на широких спектральных диапазонах (до 100 нм и более). При этом, особенно интересно выявление быстрых изменений состояния растений, так как именно такие изменения являются наиболее сложными для RGB-имиджинга. Таким образом, целью настоящей работы стал анализ эффективности ряда широкополосных индексов отражения для выявления быстрых стрессовых изменений состояния растения, для экспериментального моделирования которых были использованы электрические сигналы.

Исследования проводили на 2-3-недельных проростках гороха. В течение эксперимента растения освещали галогеновой лампой Osram Decostar (3000 К), интенсивность освещения составляла $630 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$. Электрические сигналы индуцировали ожогом первого листа. Спектры отражения измеряли на втором листе с использованием спектрометра S100; исследовали широкополосное отражения в диапазонах 400-500, 500-600 и 600-700 нм, что приблизительно соответствовало синей, зеленой и красной полосе при RGB-имиджинге. На основе измеренных интенсивностей рассчитывали ряд широкополосных индексов отражения, включая r , g , b , WI , $BRDI$, $r/(r-b)$, ExG и ряд других.

Показано, что чувствительность различных индексов к распространению электрических сигналов значительно варьировала. Статистически значимые изменения были выявлены для r , WI , $BRDI$ и $r/(r-b)$. Важно отметить, что максимальные изменения наблюдались через 25-35 минут после индукции сигналов, что показывает возможность использования исследованных широкополосных индексов для выявления быстрых изменений состояния растения.

Полученные результаты обеспечивают фундаментальную основу применения RGB-имиджинга для выявления быстрых стрессовых изменений состояния растений, что имеет высокую значимость для развития методов их дистанционного мониторинга.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 23-76-10048).

РАЗРАБОТКА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА А НА ОСНОВЕ ИСКУССТВЕННЫХ БЕЛКОВЫХ НАНОЧАСТИЦ

А. А. Зыкова¹, Е. А. Блохина¹, В. В. Курьянов¹, Л. М. Цыбалова², Н. В. Равин¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва, просп. Ленинский, 33;

annaz.zikova2017@yandex.ru

²НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17

Традиционные противогриппозные вакцины ограничены по своей эффективности из-за их специфичности к определенным штаммам. Решением может быть разработка новых вакцин с широким спектром действия на основе консервативных антигенов вирусов гриппа, таких как фрагмент второй субъединицы гемагглютинаина (HA2), внеклеточный домен белка M2 (M2e) и эпитопы нуклеопротеина (NP). Консервативные пептиды обладают низкой иммуногенностью, однако, одним из способов увеличения эффективности их распознавания клетками иммунной системы является присоединение их к наноразмерным частицам. В качестве основы для образования наночастиц могут быть самособирающиеся пептиды (self-assembling peptides, SAP). Они представляют собой пептиды со спиральными вторичными структурами, которые собираются вместе посредством Coiled Coil взаимодействия с образованием наноразмерных частиц. Эти частицы состоят из повторяющихся мотивов, что позволяет встраивать антигены в их структуры таким образом, чтобы встроенные молекулы презентировались на поверхности собранных частиц. Таким образом, эти химерные наночастицы можно использовать в качестве носителей антигенов.

Цель работы. Получение наночастиц на основе искусственного самособирающегося пептида SAP, несущих консервативные антигены вируса гриппа – участки гемагглютинаина гриппа А, нуклеопротеина и белка M2, а также универсальный Т-хелперный эпитоп PADRE. Рекомбинантные белки были экспрессированы в *Escherichia coli*. Очистка белков проводилась в денатурирующих условиях с помощью металл-аффинной хроматографии с последующим рефолдингом. С помощью атомно-силовой и электронной микроскопии, а также методом динамического светорассеяния показано, что включение SAP пептида в гибридные белки обеспечило их сборку *in vitro* в сферические наночастицы размером 20-50 нм. Иммунизация мышей наночастицами индуцировала гуморальный иммунный ответ против M2e и целого вируса гриппа А/Н3N2 и приводила к образованию секретирующих цитокины антиген-специфичных CD4⁺ и CD8⁺ эффекторных Т-клеток памяти. Наночастицы на основе SAP обладают высокой иммуногенностью и обеспечивают защиту иммунизированных мышей от летальной гриппозной инфекции. Таким образом, полученные наночастицы на основе самособирающегося пептида, несущие консервативные пептиды вируса гриппа А, могут быть использованы для разработки универсальных вакцин против гриппа.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект 122112300052-5).

АПИКАЛЬНЫЙ ДОМЕН ШАПЕРОНИНА БАКТЕРИОФАГА ОВР ПОДАВЛЯЕТ АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЕ α -СИНУКЛЕИНА

Д. Зюркалова¹, Е. В. Лейси², А. Д. Никулин¹, Л. П. Курочкина³

¹Институт белка РАН, 142290, Пущино Московской обл., ул. Институтская, 4;
dzurkalova@yandex.ru

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

³НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского
государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы, 1

Шаперонины – класс белков, способствующих правильному сворачиванию белков и обладающих АТФазной активностью. Молекула шаперонина бактериофага ОВР состоит из семи субъединиц, объединенных в кольцо. Каждая из субъединиц имеет 3 домена: апикальный, средний и экваториальный.

Мы получили рекомбинантный белок (adОВР), представляющий собой изолированный апикальный домен шаперонина и показали, что его пространственная структура соответствует структуре домена в составе полноразмерного шаперонина ОВР. Вместе с тем, мы изучили способность изолированного апикального домена влиять на процесс амилоидообразования альфа-синуклеина, белка, ассоциированного с болезнью Паркинсона.

Ранее было показано, что полноразмерный шаперонин бактериофага ОВР подавляет образование амилоидных частиц α -синуклеина в отсутствие АТФ, но в присутствии АТФ способен значительно стимулировать амилоидообразование.

Аналогично полноразмерному шаперонину рекомбинантный adОВР подавлял конверсию синуклеина в амилоидные фибриллы в присутствии АТФ, однако добавление АТФ никак не влияло на процесс ингибирования амилоидообразования. Это хорошо согласуется с утверждением, что роль апикального домена в составе молекулы шаперонина заключается в узнавании и связывании белка-субстрата. Полученный нами рекомбинантный adОВР по свойствам идентичен апикальным доменам в составе шаперонина ОВР. Способность рекомбинантного белка adОВР ингибировать рост амилоидов может быть использована в фармацевтических разработках.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ РЫБЬЕГО ЖИРА И ОЗОНИРОВАННОГО РЫБЬЕГО ЖИРА НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

А. С. Иванов, М. А. Шабалин, П. В. Ястребов, Г. А. Бояринов, А. В. Дерюгина
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anton0000-mar@yandex.ru

Физическая нагрузка вызывает изменения во всех системах организма, поддержание гомеостаза которых осуществляется многими клеточными и тканевыми системами, большинство из которых энергозависимы. Для предупреждения развития дизадаптации и улучшения протекания энергетического метаболизма при физических воздействиях целесообразно использовать соединения, направленные на повышение выносливости и снижения времени восстановления организма после крупных физических нагрузок. Целью работы являлось исследование действия рыбьего жира (РЖ) и озонированного рыбьего жира (ОРЖ) на динамику аутофлуоресценции коферментов энергетического метаболизма и показателя микроциркуляции в регистрируемом сигнале на ЛДФ-грамме после физической нагрузки, что позволяет оценить реакцию энергетического метаболизма в ответ на представленное воздействие при курсовом употреблении РЖ и ОРЖ.

Эксперимент проводили на 24 половозрелых крысах-самцах массой по 220-250 грамм. Особи были разделены на три группы (n = 8): 1 группа – животные, получавшие физ. раствор; 2 группа – РЖ; 3 группа – ОРЖ (озонидное число 3000). Нагрузочный тест проводили 4 раза в динамике эксперимента, в период постнагрузочного восстановления крысы получали перорально исследуемые соединения в зависимости от группы. Тестировали животных 6 раз: до, после нагрузочного теста (через каждые шесть дней) и после отмены препаратов (на 3 день). Моделирование физической нагрузки до отказа проводили 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. Замер показателей кровотока и амплитуды аутофлуоресценции коферментов осуществляли лазерным диагностическим аппаратом «ЛАЗМА-СТ» (НПО «Лазма», Россия). Экспериментальные данные обрабатывали статистически с использованием Microsoft Excel.

В результате эксперимента выявлено, что курсовое употребление добавок РЖ и ОРЖ привело к повышению показателя микроциркуляции по сравнению к контрольной группе с проявлением пролонгированного действия после отмены препаратов. Анализ амплитуд восстановленного НАДН, окисленного ФАД и RedOx соотношения показал равномерное снижение коферментов на 2 и 3 этапе эксперимента с дальнейшим ростом на 4 и 5 этапе, динамика RedOx соотношения была полностью противоположна и указывала на преобладание вклада ФАД над НАДН во время 4 и 5 этапа. Таким образом, происходит усиление аэробных процессов метаболизма вследствие увеличения вклада окисленного ФАД над НАДН при курсовом употреблении РЖ и ОРЖ. При этом основным фактором усиления аэробного метаболизма при действии РЖ и ОРЖ является расширение и улучшение тонуса микрососудов, и включение в процесс бета-окисления полиненасыщенных жирных кислот, дающих дополнительный субстрат для ЦТК.

СОПОСТАВЛЕНИЕ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

А. В. Иванова, Ю. А. Немцова, П. А. Пирогова, В. А. Воденев, М. А. Гринберг
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
zelenkaeee@gmail.com

Будучи постоянно действующим фактором на загрязнённых радионуклидами территориях, повышенные уровни ионизирующего излучения (ИИ) могут оказывать влияние на рост и развитие растений. Эффекты, вызываемые ИИ носят дозозависимый характер. Известно, что ИИ в больших дозах оказывает негативный эффект – угнетает рост и развитие, а облучение в малых дозах способно оказывать стимулирующее воздействие. Дозовые зависимости построены для большого количества показателей состояния растений, однако к настоящему времени они полностью отсутствуют для сигнальных систем. При этом есть основания полагать, что их радиочувствительность значительно превышает радиочувствительность многих физиологических процессов, и изменение их параметров может наблюдаться уже в диапазоне малых доз.

Целью настоящей работы являлось сопоставление дозовых зависимостей для морфометрических показателей, фотосинтетической активности и электрических сигналов у растений.

Исследования проводились на проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) возраста 14-15 дней. Облучение сухих семян проводилось на линейном ускорителе в дозах: 25, 50, 75, 100 Гр, мощность дозы составила 10 Гр/мин. Для работы были применены следующие методы: морфометрия, РАМ-флуориметрия и регистрация электрических сигналов. Регистрация показателей всех исследуемых групп проводилась одновременно. Электрический сигнал индуцировался нагревом кончика листа в кювете с водой.

Показано дозозависимое снижение длины и сухого веса корней.

Статистически значимые различия по длине с контролем имеют место при 100 Гр, по сухому весу – при 75, 100 Гр. Нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) при исследованных дозах не изменяется, квантовый выход фотосистемы II (YII) статистически значимо снижается с 50 Гр. Показано, что в отличие от других показателей параметры электрических сигналов изменяются начиная с меньших из исследованных доз – 25 и 50 Гр. При этих дозах обнаружено возрастание амплитуды сигналов и уменьшение времени, требуемого для их возникновения. Было установлено, что сигнальные системы обладают большей радиочувствительностью по сравнению с морфологическими показателями и фотосинтетической активностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 23-24-00340.

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК – ТРИГГЕР БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ПЛАНКТОННОЙ КУЛЬТУРОЙ *V. CEREUUS*

***Л. А. Иванова*¹, *А. Д. Япрынцев*², *А. Е. Баранчиков*², *В. В. Егоров*¹, *Я. А. Забродская*³, *Д. В. Лебедев*¹, *Г. П. Копица*¹, *А. А. Кульминская*¹, *Ю. Е. Горшкова*⁴**

¹Петербургский институт ядерной физики НИЦ «Курчатовский институт», 188300, Гатчина Ленинградской обл., мкр. Орлова роща, 1;

ivanova_la@nrci.nrcki.ru

²Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, 119991, Москва, просп. Ленинский, 31

³НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17

⁴Объединенный институт ядерных исследований, 141980, Дубна Московской обл., ул. Жолио-Кюри, 6

Биоминерализация – это явление образования неорганических минералов живыми организмами, широко распространенное среди всех живых Царств в природе. Бактерии, обладающие уреалитической активностью, способны осаждать ионы Ca^{2+} с образованием CaCO_3 за счет своих метаболических реакций с окружающей средой, предполагающих сдвиг значения pH микроокружения и образования карбонат-ионов. В естественной среде по такому пути образуются некоторые осадочные горные породы, сталактиты и сталагмиты, микробиалиты, масштабные седиментации, а также инкрустированные минералами биопленки, которые являются серьезной проблемой в клинической практике: образуя кальциевые пробки при тонзиллитах, зубной камень и вызывая закупорку стационарных мочевых катетеров, ведущую к острым воспалительным заболеваниям мочевыводящих путей. Таким образом, исследование механизмов биоминерализации важно как для поиска путей ее торможения и решения клинических задач, так и для индукции биоминерализации для создания новых экологических технологий строительства, ремонта бетонных конструкций, обеспечения целостности пористых сред и гидравлического контроля почв, а также восстановления исторических зданий и сооружений.

В нашей работе впервые было исследовано взаимное влияние процессов образования внеклеточного матрикса биопленки и процесса бактериальной биоминерализации, протекающих параллельно, а также установлена роль основных макромолекул матрикса в осаждении CaCO_3 и структуре минералов. С помощью широкого спектра микроскопических методов было показано, что внеклеточная ДНК, входящая в состав бактериального матрикса, служила матрицей осаждения CaCO_3 как в бактериальной системе, так и в бесклеточной с добавлением экзогенной ДНК. Исключение ДНК-компоненты из бактериальной системы с помощью фермента ДНКза I приводило к радикальному замедлению биоминерализации, изменению полиморфного состава осадка, а также его кристаллической и надмолекулярной структуры, исследуемых широким спектром методов, включающих ИК-спектроскопию, РФА, МУРР и МУРН.

Полученные результаты не только расширяют представления о механизмах бактериальной биоминерализации, но и указывают пути решения важных клинических задач, таких как борьба с инкрустированными биопленками. Кроме того, полученные результаты способствуют развитию современных экологических технологий строительства, особенно актуальных для средней полосы России и южных регионов.

Работа выполнена при финансовой поддержке «КГЦ – ПИЯФ» программой развития центров генетических исследований мирового уровня, Соглашение No. 075-15-2019-1663.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНДОЛИТНОГО ШТАММА *NOCARDIA MANGYAENSIS* N1 И ЕГО СИДЕРОФОРОВ

Т. М. Ивойлова, А. А. Елистратова, А. В. Лайков, Т. В. Ширшикова, И. В. Хиляс

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
tatyana.ivoylova@outlook.com

Использование бактерий в сельском хозяйстве как напрямую в качестве биопрепаратов или биоудобрений, так и в качестве источников новых соединений является одним из аспектов биологизации земледелия. Эндолитные организмы могут обладать ценными и перспективными биотехнологическими свойствами, так как они колонизируют и выживают в экстремальных условиях – внутри и на поверхности пород и минералов. Эндолиты вовлечены в геохимические процессы, продуцируя различные метаболиты, включая металлсвязывающие соединения – сидерофоры.

Цель исследования заключалась в изучении свойств штамма *Nocardia mangyaensis* N1, выделенного из минерала гидромагнетита, и возможного применения в сельском хозяйстве. Штамм продуцирует сидерофоры катехолового и гидроксаматового типа, биосурфактанты, индолил-3-уксусную кислоту, также способен к росту на среде с лигнином в качестве единственного источника углерода и энергии.

Также обнаружена антифунгицидная активность метаболитов штамма в отношении фитопатогенных микромицетов (*Fusarium oxisporum* PR 57, *Rhizoctonia solani* MFP 936011, *Alternaria sp.* и *Colletotrichum coccodes* MF 16-014), вызывающих болезни картофеля. Исследование фитотоксических свойств штамма *N. mangyaensis* N1 не показало угнетения роста модельного объекта *Arabidopsis thaliana*. При этом сам штамм не токсичен для микрочеренков картофеля (*Solanum tuberosum* L.). ВЭЖХ среды Мурасиге-Скуга, в которой выращивались микрочеренки с добавлением штамма не показала достоверных различий между опытом и контролем. Инокуляция штамма внутрь клубней картофеля сорта «Жуковский» (*Solanum tuberosum* L.) не приводила к их поражению.

При обработке семян пшеницы штамм *N. mangyaensis* N1 проявил рост-стимулирующую активность. Обработка не повлияла на энергию прорастания и всхожесть семян, однако отмечалось увеличение массы корней и побегов по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, *N. mangyaensis* N1 представляет собой перспективный организм для использования в сельском хозяйстве: создание биоудобрений и биопрепаратов, борьба с фитопатогенами, улучшение качества почвы.

РНФ 24-24-00473.

ЛАЗЕРНЫЙ ДАТЧИК СОДЕРЖАНИЯ ЖИРА И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ

Д. Н. Игнатенко, А. В. Шкирин, М. Е. Асташев, Н. В. Суязов, С. В. Гудков

Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38;

DmitriyEK13104@yandex.ru

Предложен прототип лазерного датчика состава молока, основанный на измерении углового распределения интенсивности рассеяния света в цилиндрической геометрии. Датчик имеет моноблочную компоновку, включающую в себя оптический блок, микроконтроллер и проточный блок.

Аксиальный фотодиодный массив детектирует свет, рассеянный молоком, которое облучается лазерным диодом, работающим в режиме прямоугольных импульсов с длительностью импульса 5 с. Показания фототока снимаются с частотой 1 с^{-1} и подвергаются медианной фильтрации. В качестве значения интенсивности рассеяния регистрируется разность между медианой фототока при включении лазера и медианой темнового тока для каждого из 8 фотодиодов, расположенных под углами рассеяния (0° , 18° , 54° , 72° , 90° , 126° , 144° , 162°), со скоростью обновления, соответствующей частоте прямоугольных лазерных импульсов. По логарифмическим значениям интенсивности рассеяния, измеренным на углах рассеяния (72° , 90° , 126° , 144° , 162°), определяется средний наклон индикатрисы рассеяния методом наименьших квадратов. Затем путем подстановки полученного значения наклона в характеристическую функцию, связанную с жирностью молока, определяется процентное содержание жира. Кроме того, рассчитывается относительное отклонение разности логарифмированной интенсивности между углами прямого (0°) и обратного рассеяния (144°) от калиброванного значения разности для беспримесного молока. Величина этого отклонения сравнивается со средним значением, соответствующим допустимому ССК, равному 10^5 на мл, с целью фиксации превышения уровня ССК. Контроллер производит необходимые расчеты в циклическом режиме и периодически обновляет выходные значения процентного содержания жира и отклонения перепада интенсивности.

Реализованная модель лазерного скаттерометрического датчика может быть интегрирована с контроллером доильной системы и, соответственно, может использоваться в доильных залах и автоматизированных доильных системах.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ТОЛУИДИНОВОГО СИНЕГО В СРЕДЕ АЛЬГИНАТНОГО ГИДРОГЕЛЯ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ

М. М. Игнатьева

Удмуртский государственный университет, 426034, Ижевск, ул. Университетская, 1;
marina.ignateva.97@bk.ru

Гелеобразующие вещества широко применяются для имитации межклеточного матрикса при моделировании тканевых конструкций, создании биочернил, трехмерного культивирования клеток. В этой связи представляет интерес оценка диффузионных параметров гидрогелей и окислительно-восстановительной активности иммобилизованных в них клеток. Циклическая вольтамперометрия (ЦВА) веществ с известным электрохимическим поведением (в нашей работе – толуидиновый синий (ТС)) позволяет оценить как диффузионные свойства альгинатного геля, так и вклад клеток в окислительно-восстановительное поведение ТС.

Целью исследования стала оценка влияния гидрогелевой среды с иммобилизованными клетками на электрохимическое поведение толуидинового синего.

Для моделирования гидрогелевых сред использовали альгинатный гель в виде 3% раствора на фосфатно-солевом буфере (ФСБ). На рабочий электрод наносили 1 мкл гелеобразователя (контроль) или гелеобразователь с клеточной взвесью (клетки перитонельного смыва мыши) (опыт). Гели полимеризовали 2 М раствором CaCl_2 , избыток которого удаляли с электрода перед измерением. Использовался диапазон потенциалов -450...0 мВ (относительно хлорсеребряного электрода). Для оценки диффузии ТС измерения проводились в течение 40 минут с интервалом 5 минут. Концентрация ТС во всех измерениях была постоянной (0,1 мМ). Фоновым электролитом служил ФСБ.

ТС обладает обратимым электрохимическим поведением, что отражается на кривых ЦВА формированием воспроизводимых пиков окисления и восстановления, значения пиковых катодных и анодных токов близки по модулю. Наличие на электроде геля приводит к характерному снижению абсолютных значений силы тока, особенно выраженного на начальных этапах эксперимента. При этом наблюдается заметное увеличение пика окисления и сглаживание пика восстановления на кривых ЦВА, что может быть следствием разной скорости диффузии восстановленной и окисленной формы ТС в альгинатном геле. В присутствии клеток, иммобилизованных в геле, наблюдали почти двукратный рост токов окисления и появление пика восстановления. Через 40 минут кривые ЦВА демонстрировали качественное сходство с зависимостями, полученными в среде ФСБ без гелеобразователей. При этом значения предельных токов оказались ниже, а присутствие клеток отражалось сдвигом значений потенциала в более положительную область и превышением значений токов восстановления.

Таким образом, присутствие клеток в гидрогелевой среде оказывает заметное влияние на окислительно-восстановительное поведение ТС и позволяет смоделировать лабораторный прототип электрохимической биосенсорной системы для исследования тканевых конструкций, создании биочернил, трехмерного культивирования клеток.

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМИКИ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПАЦИЕНТОВ С ЮВЕНИЛЬНЫМ МИЕЛОМОНОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ (ЮММЛ) И RAS-АССОЦИИРОВАННЫМ АУТОИММУННЫМ ЛЕЙКОПРОЛИФЕРАТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ (RALD)

А. В. Иконников^{1, 2}, Е. В. Волчков^{1, 3}, А. А. Хозяинова⁴, М. Х. Гуржиханова³, Е. В. Денисов^{1, 4}, М. А. Масчан³

¹Российский университет дружбы народов, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;
alex.v.ikonnikov@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

⁴Томский НИМЦ РАН, 634009, Томск, пер. Набережная реки Ушайки, 10

Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) и RAS-ассоциированное аутоиммунное лейкопролиферативное заболевание (RALD) характеризуются схожими клиническими проявлениями, обусловленными мутациями в RAS-сигнальном пути, и высоким риском трансформации во вторичный острый миелоидный лейкоз (вТОМЛ). Анализ данных scRNA-секвенирования дает возможность изучать экспрессионный профиль и дифференциальную экспрессию генов на уровне отдельных клеток.

Целью работы являлось изучение данных РНК-секвенирования единичных клеток костного мозга (КМ) пациентов с ЮММЛ и RALD в сравнении с контрольной группой методами биоинформатического анализа.

Материалы и методы. В качестве образцов были использованы клетки КМ 3 пациентов с ЮММЛ с мутациями генов RTPN11, NF11, NRAS и 1 пациента с RALD, проходивших лечение в НМИЦ ДГОИ им. Д.Рогачева. Пробоподготовка для РНК-секвенирования единичных клеток выполнялась на платформе Chromium X (10x Genomics, USA). Секвенирование проводилось с помощью Genolab M (GeneMind, China). В качестве контроля были использованы данные scRNA-секвенирования КМ 3 здоровых детей из открытой базы данных NCBI GEO. Базовый анализ выполнялся с помощью пакета Scanpy (v.1.9.5). Анализ метаболических путей проводился с использованием пакетов GSEApy и DecoupleR.

Обнаружено, что образцы ЮММЛ и RALD характеризовались значительной пролиферацией клеток миеломоноцитарного ряда по сравнению с контролем, что коррелировало с данными иммунофенотипирования. В образце ЮММЛ с агрессивным клиническим течением и мутацией в RTPN11 было также отмечено значительное количество стволовых клеток (HSCs) и ранних предшественников. Анализ дифференциальной экспрессии генов и метаболических путей выявил сходство между клетками HSCs образцов ЮММЛ и RALD по профилю генной экспрессии. Анализ гетерогенности клеток предшественников экспериментальных образцов показал их кластеризацию по стадиям дифференцировки. Клетки образцов ЮММЛ и RALD характеризовались повышенной активностью метаболического пути MAPK в сравнении с контролем. Данная активность была неравномерна в клеточных популяциях и наиболее выражена в HSCs и MEPs (Megakaryocyte-erythroid progenitor cells). Также отмечена повышенная активность PI3K-пути в образце с агрессивным течением и мутацией в RTPN11.

Таким образом, в ходе исследования удалось изучить профили экспрессии генов различных клеточных популяций образцов КМ ЮММЛ и RALD в сравнении с образцами контрольной группы.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НЕКОТОРЫХ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШКОЛЬНИКОВ 5-9 КЛАССОВ, ПЕРЕНЕСШИХ И НЕ ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

О. А. Ильичева

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева,
443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34;
oiljichyova@yandex.ru

Дети не являются основными переносчиками COVID-19. Но тем не менее причина этого, как и тот факт, что дети переносят заболевание иначе (с точки зрения патофизиологии), пока неясны. Необходимо проведения дополнительных исследований для лучшего понимания влияния коронавирусной инфекции на детей и подростков.

Цель исследования: изучение функциональных возможностей сердечно-сосудистой системы учеников 5-9 классов перенесших и не перенесших COVID-19.

Исследования проводились в ГБОУ ООШ п. Ровно-Владимировка на учениках 5-9 классов до уроков, после уроков, а также до и после урока физкультуры. Всего было обследовано 23 школьника возрастом 11-16 лет и проводилось с соблюдением всех биоэтических норм и правил. Родители дали письменное согласие на участие детей в эксперименте.

Предварительно с учениками было проведено анкетирование. Были получены данные о перенесенной коронавирусной инфекции, о близком контакте с людьми, у которых был подтверждён COVID-19, а также о степени физического развития организма (занятия спортом, секции).

В ходе исследования фиксировались показатели роста, веса, силы правой и левой руки. Также проводились измерения артериального давления, частоты сердечных сокращений и уровня насыщения крови кислородом.

На основании проведенного анализа полученных результатов состояния функциональных возможностей сердечно-сосудистой системы у учеников 5-9 классов, перенесших и не перенесших COVID-19, не было выявлено существенных отличий в состоянии функциональной системы.

Нами было выявлено, что реакции сердечно-сосудистой системы у учеников 5-9 классов, перенесших COVID-19, на физическую нагрузку на уроке физической культуры не выходили за границы нормы. Исходя из этого можно предположить, что последствия перенесенного заболевания не сказываются на общем функционировании сердечно-сосудистой системы детей.

На практике у учеников 5-9 классов, перенесших COVID-19, наблюдались разноплановые реакции сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку на уроке физической культуры, однако нами не было выявлено общих тенденций.

Проведенное нами исследование дополняет литературные данные о физическом развитии и функциональном состоянии сердечно-сосудистой системы у школьников 5-9 классов в целом и также в ответ на физическую нагрузку (на уроке физкультуры). Важность нашего исследования состоит в сравнительном анализе двух групп: школьников, которые переболели COVID-19 и тех, кто не переболел данным заболеванием.

ПРИМЕНЕНИЕ АЛГОРИТМА АДАПТИВНОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭВОЛЮЦИИ JADE ДЛЯ ПОДБОРА ПАРАМЕТРОВ МЕТОДОВ СЕГМЕНТАЦИИ ИЗОБРАЖЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА ПРИМЕРЕ КАМПУСА ННГУ

Н. А. Исайкин, В. Н. Якимов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
aseout@gmail.com

Городская растительность – важный компонент городской среды, вносящий существенный вклад в формирование комфортной окружающей среды путём предоставления экосистемных услуг, влияющих на качество жизни населения. Получение актуальной информации о древесно-кустарниковой растительности является ключевой задачей количественной оценки экосистемных услуг, облегчить выполнение которой можно путём привлечения данных оперативного дистанционного зондирования. Так, применение материалов аэрофотосъёмки позволяет анализировать цифровые модели растительных сообществ для получения информации о структурных показателях и пространственном распределении отдельных деревьев, необходимой для расчёта экосистемных услуг.

Целью работы являлась разработка и апробация метода систематической оптимизации параметров алгоритмов выявления крон деревьев по данным аэрофотосъёмки.

Материалом для исследования послужили результаты аэрофотосъёмки растительности кампуса ННГУ, выполненной 13 июля 2022 г. с помощью квадрокоптера DJI P4M, а также данные полевой инвентаризации древесно-кустарниковой растительности территории, выполненной летом 2022 г. Массив фотографий, полученных в процессе аэрофотосъёмки, был подвергнут фотограмметрической обработке с последующим созданием цифровых моделей и ортомозаик.

Дальнейшая обработка материалов проведена в среде R с применением пакетов rLiDAR, ForestTools и DEoptim. По результатам обработки были получены модель древесного полога и ортомозаики, далее сегментированные с помощью четырёх алгоритмов. Качество сегментирования оценивалось как степень соответствия между результатами алгоритмического распознавания и ручной оцифровкой крон с применением метрик precision, recall и F-score. Для поиска оптимальных значений параметров были применены методы дифференциальной эволюции на примере стратегии «DE/current-to-p-best/1» – алгоритм JADE. Процесс оптимизации был выполнен для каждого метода отдельно и заключался в направленном подборе значений параметров с целью получения наиболее высокого F-score.

Согласно полученным результатам, для всех методов сегментирования характерно повышение точности выявления крон при переходе от параметров по умолчанию к алгоритмически оптимизированным значениям, а итоговое качество распознавания после процедуры оптимизации варьировало для разных методов в пределах 58.9 – 62.4%, при этом скорость и степень оптимизации оказались различны.

Таким образом, был предложен и апробирован систематический подход к оптимизации параметров алгоритмов сегментирования на основе методов дифференциальной эволюции, позволяющий уменьшить влияние человеческого фактора на результаты выявления крон деревьев по их изображениям, что способствует рационализации процесса оценки экосистемных услуг дистанционными методами.

Работа выполнена в рамках государственного задания Н-023-0_2023-2025.

АНАЛИЗ ПОВЕРХНОСТИ ЦИТРАТ-СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ И ЭКСТРАКТ-СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Л. И. Искужина, Э. В. Рожина, А. О. Рожин

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

Использование наночастиц серебра (AgNPs), полученных на основе экстрактов растений, бактерий и других биологических источников, открывает новые перспективы для разработки эффективных антимикробных и противовоспалительных средств. В данном исследовании проведен анализ поверхности наночастиц серебра, стабилизированных цитратом и экстрактом. Экстракт-стабилизированные AgNPs получены путем восстановления молекул серебра в экстракте мха *Sphagnum fallax*, который известен своими антибактериальными свойствами и, по последним исследованиям, содержит более 17 антибактериальных соединений. Синтез с его помощью ранее не проводился и был разработан с целью создания простого, экономичного и эффективного метода создания AgNPs. Прошлые работы показали высокую антибактериальную активность экстракт-стабилизированных наночастиц серебра на 5 видах условно-патогенных бактерий, по сравнению с классическими химическими наночастицами. Поэтому на следующем этапе мы изучали покрытие полученных нами наноматериалов, за счёт которого они имели такой эффект. Отметим, что, согласно литературным данным, биогенные наноматериалы считаются наименее токсичными для человека.

Электронная микроскопия подтвердила образование AgNPs размером 25-30 нм. Картирование показало, что использование обоих типов восстановителей привело к максимальному сигналу от соединений серебра. Применение экстракта в качестве стабилизатора вызвало изменение спектральных сигналов частиц. На краю спектров экстракта сфагнума и экстракт-стабилизированных AgNPs, в диапазоне 800-900 нм, наблюдается шум, отсутствующий у химических наночастиц. Для детального изучения состава наночастиц была проведена ИК-Фурье спектроскопия. Спектры записывались в диапазоне 600-4000 см⁻¹ для распознавания функциональных органических групп или остатков биомолекул. Наблюдались схожие полосы поглощения у спектров, полученных из экстракта сфагнума и экстракт-стабилизированных наночастиц. Выявлено, что в области 1000 см⁻¹ имеются аналогичные выраженные пики для сфагнума и экстракт-стабилизированных AgNPs, вероятно, соответствующие асимметричному участку СО в спиртах, эфирах или углеводах, содержащих эфирные и спиртовые группы. В цитрат-стабилизированных AgNPs подобного пика нет. Полученные данные подтверждают восстановление наночастиц серебра с помощью органических соединений из экстракта сфагнума. Фитохимический анализ экстракта мха показал наличие терпеноидов, сапонинов, гликозидов и алкалоидов, которые могут покрывать поверхность AgNPs.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, № 21-74-10034.

КОМБИНАЦИЯ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ И КОРРЕЛЯЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРОПЛАСТИКА И НАНОГЛИН В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ

И. Р. Ишмухаметов, Р. Ф. Фахруллин

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
IRIshmuhametov@kpfu.ru

Усиленная темнопольная микроскопия, дополненная гиперспектральной визуализацией (УТМ-ГВ) в сочетании с алгоритмами машинного обучения открывает новые перспективы в исследовании наноматериалов для биомедицинских приложений. Такой интегрированный подход не только сокращает время анализа данных микроскопии, что важно при визуализации прижизненных объектов, но и способствует повышению точности диагностики материалов в условиях, где традиционные математические алгоритмы непроизводительны. В работе представлена адаптация интеллектуальных алгоритмов для анализа данных, полученных с помощью метода корреляционной микроскопии, а также исследована их точность на примерах идентификации первичного микропластика и наноглин в контексте взаимодействия с клеточными культурами.

Для оценки возможности скрининга монодисперсных частиц в клетках использовались сферические частицы полистирола с диаметром 1 мкм, различающиеся по пигментации (бесцветные, синие, красные). Исследуемые образцы в концентрации 10 мкг/мл были добавлены в культуру фибробластов кожи человека для суточной инкубации. После инкубации образцы клеток фиксировались и визуализировались посредством УТМ-ГВ для сбора темнопольных и гиперспектральных данных. С целью оценки возможности классификации спектральных данных использовались три типа наноглин (галлуазит, каолин, сепиолит). Массивы данных были собраны после инкубации наноглин (1-100 мкг/мл) с клетками A549, аналогично методике, применяемой для микропластика. Полученные данные затем использовались для обучения, проверки и тестирования одномерной (классификация наноглин) и двумерной (классификация микропластика) моделей нейронной сети.

В результате было выявлено, что применение остаточной нейронной сети для экспресс-диагностики первичного микропластика обеспечивает точность классификации, сопоставимую с гиперспектральным анализом. В случае с классификацией одномерных спектральных данных наноглин в клетках модель нейронной сети превзошла алгоритм картирования по спектральному углу. Таким образом, в работе предложен новый подход для анализа микро- и наночастиц, объединяющий современные методы визуализации, автоматизированные техники сбора данных и машинное обучение.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 20-13-00247).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОСИСТЕМ ДЛЯ ОЦЕНКИ АНТИОКСИДАНТНЫХ И АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТОВ БАРХАТЦЕВ РАСПРОСТЕРТЫХ (*TAGETES PATULA*)

К. Ш. Казимова^{1, 2}, А. С. Черникова¹, Ф. Ю. Ахмадуллина¹, Ю. В. Щербакова¹

¹Казанский национальный исследовательский технологический университет, 420015, Казань, ул. Карла Маркса, 68;

camilakazimova@yandex.ru

²Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31

С целью расширения спектра биологически активных средств повышенное внимание уделяется изучению свойств нетрадиционного отечественного фитосырья, характеризующегося потенциальной биологической активностью, высокой динамикой роста и неприхотливостью, что экономически целесообразно при промышленном производстве биологических препаратов, в том числе экстрактов на их основе.

Этим критериям отвечают бархатцы распростертые (*Tagetes patula*), настои и отвары которого нашли применение в народной, но не в официальной медицине как мочегонное, потогонное, глистогонное и противовоспалительное средство, благодаря, очевидно, богатой системе биологически активных веществ различной природы.

Цель работы заключалась в изучении антиоксидантной и антимикробной активности водных экстрактов высушенных цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula*).

Для подтверждения антиоксидантных свойств полученных экстрактов использовали метод биотестирования. В качестве тест-объекта была выбрана равноресничная инфузория *Paramecium caudatum*. При этом исследовали стрессоустойчивость биотеста по отношению к стрессорам – пероксида водорода и этанола.

Биотестирование проводили в два этапа. На первом этапе культивировали инфузории в питательной среде, содержащей экстракт. Контролем служила пробирка, в которую к инфузориям вносили питательную смесь, состоящую только из дрожжевой суспензии и питательной среды Лозин-Лозинского. На втором этапе после трехсуточного инкубирования определяли стрессоустойчивость инфузорий по отношению к стрессору и засекали время полного обездвиживания парамеций. Эксперимент проводили в 3-х кратной повторности.

Согласно полученным данным, экстракты из цветов бархатцев распростертых увеличивают стрессоустойчивость тест-объекта: наибольшей эффект наблюдался при использовании в качестве стрессора перекиси водорода в диапазоне 0,03-0,435 мг/мл.

При проведении антимикробного анализа *in vitro* использовали следующие штаммы микроорганизмов: *Erwinia carotovora*, *Clavibacter michiganensis* VKM Ac-1404, *Alternaria solani* K-100054, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum coccodes*.

Минимальную ингибирующую концентрацию (бактериостатическую активность) определяли методом последовательного разведения в модификации. Фунгистатическую активность фитоэкстрактов определяли методом серийного разведения в жидкой среде. В качестве контроля использовали пробирки, содержащие только соответствующие питательные среды.

Для установления минимальных бактерицидных и фунгицидных концентраций в чашки Петри с агаризованной питательной средой при помощи бактериологической петли добавляли 10 мкл инокулята, или кусочек мицелия грибов, взятых из пробирок без видимого роста.

Полученные результаты свидетельствуют о умеренной антимикробной активности.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ: РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ ГЕМОСТАЗА

А. Б. Казумова

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8;
aglaja.kazumowa@yandex.ru

Актуальность. В последнее десятилетие все больше исследований сообщают о наличии у пациенток, страдающих осложнениями беременности и родов (повторные потери плода, мертворождение, задержка внутриутробного развития, преэклампсия), врожденной тромбоцитической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП). Эта патология требует особенного подхода в диагностике.

Цель и задачи. Провести анализ актуальности диагностики генетического дефекта ADAMTS13 при ТТП, определить продуктивность технологий, применяемых для терапии акушерских осложнений.

Материал и методы. Случаи синдрома Апшоу-Шульмана (USS) были диагностированы в период с 2017 по 2023 годы – всего 21 пациент. Изучены течение и исходы беременностей у женщин с ТТП. Исследовали активность ADAMTS13, осложнения во время родов, тактику лечения.

Результаты. USS – редко регистрируемая врожденная форма ТТП, возникающая в результате мутаций в гене ADAMTS13. Заболевание возникает неожиданно и связано с повышенным риском смерти матери и плода.

Физиологическая роль мультимерного vWF заключается в обеспечении адгезии тромбоцитов к субэндотелиальному матриксу в условиях повреждения сосуда и гемодинамического стресса. При дефиците ADAMTS13 vWF находится в «необработанной» форме и микрососуды оказываются перекрыты ультравысокомолекулярными vWF, на которых оседают тромбоциты, образуя блокирующие микрососудистое русло тромбы. Микроангиопатия приводит к образованию шизоцитов.

То есть, первыми признаками USS являются острая микроангиопатия, характеризующаяся гемолитической анемией, тромбоцитопенией и сосудистыми микротромбами. Возникающие ишемические поражения могут поражать любой орган, включая плаценту. Большинство больниц технологически не оснащены для постановки полного диагноза. Лечение должно быть скорректировано в соответствии с акушерской оценкой, что требует интеграции телемедицины.

В общей сложности у женщин из проанализированных автором групп произошел 21 эпизод беременности, из них у 15 были акушерские осложнения, включая 46,7% (7/15) преждевременную потерю плода (<10 недель), 26,7% (4/15) позднюю потерю плода (≥10 недель) и 26,6% (4/15) преждевременные живорождения. Автор наблюдал высокую степень корреляции (41,2%-59,2%) уровня ADAMTS13 и тромбоцитических и акушерских осложнений. USS может явиться причиной клинической симптоматики осложненного течения беременности в 15% случаев, поэтому врачи должны обладать ADAMTS13-настороженностью.

Выводы. Акушеры-гинекологи должны быть осведомлены о редком и смертельном заболевании – ТТП при USS. Беременность с USS станет одной из основных областей акушерских разработок в ближайшие годы, необходимы дальнейшие исследования для формирования лучших терапевтических возможностей в будущем.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МОДИФИКАЦИЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ HARVAIS AND HANDLEY НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН И РАННИЕ СТАДИИ ОНТОГЕНЕЗА *BLETILLA STRIATA* В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Е. А. Калачева, В. В. Сырова, А. Е. Макарова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Ekaterinakalah@yandex.ru

Многие наземные орхидеи в настоящее время находятся под большим риском исчезновения в результате множества угрожающих процессов. Поскольку у большинства орхидных семенное размножение затруднено и процесс развития растений очень длительный, то прорастание семян в условиях *in vitro* является ключевым подходом, для размножения и сохранения биоразнообразия орхидей.

Цель данного исследования – анализ влияния модификаций питательной среды Harvais and Hadley на прорастание семян и ранние стадии онтогенеза *Bletilla striata* (Thunb.) Rchb.f. в условиях *in vitro*. Работа выполнялась на базе лаборатории микрклонального размножения растений ботанического сада ННГУ. Объектом стал вид наземной орхидеи – *Bletilla striata* (Thunb.) Rchb.f. В ходе эксперимента зрелые семена были посеяны на 4 модификации Harvais and Hadley (1967): стандартная среда Harvais and Hadley (НН), стандартная среда с добавлением 0,5 мг гормона 6-БАП и 0,2 мг гормона НУК (НН + G), среда с двойной концентрацией макро- и микросолей (2НН), среда с 0,5 концентрацией макро- и микросолей (½НН).

Результаты исследований прорастания семян показали относительно схожие темпы развития на средах НН, 2НН и НН + G, однако семена на среде ½НН начали прорастать на неделю позже.

На 6 неделю после посева самая большая всхожесть семян оказалась на среде 2НН – 0,6% при этом 75% перешли из стадии протокорма в стадию проростка, на среде НН + G всхожесть была меньше – 0,5%, но протокормов, которые перешли в стадию проростка больше – 80%, на стандартной среде НН всхожесть составила 0,25% при этом 50% из них являлись проростками, среда ½НН показала наименьшую всхожесть – 0,15% при этом все проросшие семена находились в стадии протокорма.

Таким образом, лучшими средами для проращивания семян оказались среда с двойной концентрацией макро- и микросолей (2НН) и среда с добавлением 0,5 мг гормона 6-БАП и 0,2 мг гормона НУК (НН + G). Это подтверждается всхожестью семян: на среде 2НН – 0,6%, на среде НН + G – 0,5%, и процентом протокормов, перешедших в стадию проростка: на среде 2НН – 75%, на среде НН + G – 80%.

ЭФФЕКТ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА RPP2C НА ДЛИНУ ТЕЛОМЕР РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Е. В. Калмыкова, И. А. Агабекян, А. Ю. Люшиненко, Л. Р. Валеева, Л. Р. Абдулкина, Е. В. Шакиров

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
ekaterinakalmykova27709@mail.ru

Теломеры представляют собой эволюционно консервативные ДНК-белковые комплексы на концах линейных эукариотических хромосом. Они выполняют несколько жизненно важных функций: защита хромосом от повреждения ДНК нуклеазами, поддержание стабильности генома и предотвращение прогрессирующей потери терминальных последовательностей ДНК во время каждого цикла деления клетки. Наследуемые естественные вариации длины теломер существуют у дрожжей, мышей, растений и людей при рождении. Несмотря на значительный прогресс в понимании механизмов, обеспечивающих поддержание длины теломер, до сих пор нет информации о генетических факторах, ответственных за установление генетически детерминированной длины теломер. Для того, чтобы найти эти гены, мы исследовали изменение длины теломер в модельном растении *Arabidopsis thaliana*. Преимуществом этого растения является полностью секвенированный геном, коллекция трансгенных линий с инактивированными генами. Последние исследования различных организмов указывают на то, что некоторые из генов, функционирующих в регуляции длины теломер влияют не напрямую, а опосредованно, за счет взаимодействия между процессами поддержания длины теломер, модификации хроматина, синтеза рРНК, клеточной пролиферации и других путей. В связи с этим главной задачей нашего исследования являлся анализ влияния рибосомного гена RPP2C на регуляцию длины теломер растения *Arabidopsis thaliana*. Результат исследований, проведенных на гомозиготных Т-ДНК мутантах по гену RPP2C, показал, что длина теломер у мутантов была длиннее, чем у дикого типа. Таким образом, ген RPP2C является фактором, который отрицательно влияет на длину теломер.

Исследование выполнено в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ И ВРЕМЕННАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ МАГНИТНОГО ПОЛЯ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ СО₂-ИНКУБАТОРОВ
М. А. Карпова¹, Л. М. Сенча¹, А. А. Долинин², Ф. Г. Сарафанов², Н. В. Ильин², Е. А. Мареев², В. А. Воденев¹, М. А. Гринберг^{1,2}, И. В. Балалаева¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mashamasha8159@gmail.com

²Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

В биологических и биомедицинских исследованиях часто используются клеточные культуры. Их выращивание происходит в условиях с контролируемыми параметрами газового состава, влажности и температуры. Лабораторные СО₂-инкубаторы способны поддерживать стабильность вышеперечисленных факторов с высокой точностью. Однако все чаще в научном сообществе поднимается вопрос о различных неучтенных параметрах, влияющих на клетки в процессе инкубирования. В частности, речь идет об изменении магнитного фона, возникающего из-за металлических деталей и электроники инкубатора.

Целью данного исследования было сравнение величины статического магнитного поля (СМП) в двух типах СО₂-инкубаторов. Инкубаторы одного производителя (BINDER GmbH, Германия) были расположены в одном помещении в близости друг от друга. Первая модель С150 имела больший размер и объем в сравнении со второй моделью СВ53. Для обоих инкубаторов характерны внутренняя обшивка, перфорированные полки и лоток, изготовленные из нержавеющей стали.

СМП измеряли с помощью 3-осевого магнитометра Fluxgate HWT3100 (WitMotion Shenzhen Co., Ltd., Китай), подключенного к персональному компьютеру. Измерения проводили в 18 точках в С150 и в 8 точках в СВ53 на каждой из полок, что соответствует количеству культуральных планшетов (128×85,5 мм) при полной загрузке инкубаторов. Дополнительно измеряли СМП в центре каждой полки. Для оценки влияния ориентации инкубатора относительно геомагнитного поля (ГМП) измерения для модели СВ53 проводились в двух положениях: «W-E» (дверцей на запад) и «S-N» (дверцей на юг).

При измерении величины СМП в ориентации «W-E» было обнаружено снижение значений в центре обоих инкубаторов на 15-30 мкТл по сравнению с ГМП, составляющим 53,93 мкТл в географической точке лаборатории. В ходе измерения СМП в различных точках была выявлена его сильная пространственная изменчивость вплоть до десятков мкТл в границах одной полки в обоих инкубаторах и аналогично между полками. Также у модели СВ53 были обнаружены существенные колебания СМП с размахом около 45% от среднего значения, возникающие в момент его включения и сохраняющиеся в течение длительного периода наблюдения. Поворот СВ53 на 90° и смена ориентации на «S-N» привела к значимому уменьшению или увеличению значений СМП в отдельных точках.

Полученные данные показывают, что значение СМП существенно изменяется в условиях СО₂-инкубатора по сравнению с ГМП и зависит от модели, конкретной точки внутри устройства, его положения в пространстве и момента времени. Учитывая возможность возникновения различных биологических эффектов из-за изменения магнитных условий, можно предположить, что пространственная и временная неоднородность СМП внутри инкубатора может приводить к высокой вариабельности и плохой воспроизводимости экспериментальных данных.

Программа 10 Экспериментальная Лабораторная Астрофизика и Геофизика НЦФМ.

КОНТРОЛИРУЕМЫЙ МУТАГЕНЕЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ДИЗАЙНА АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ С ПОВЫШЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Ю. С. Карпова, Е. Н. Графская, В. А. Манувера, В. Н. Лазарев

Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.
М. Лопухина, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а;
yuliakarpovabon@gmail.com

Возрастающее распространение антибиотикоустойчивых патогенных бактерий является серьезной проблемой мирового здравоохранения. В поисках решения исследователи активно изучают короткие пептиды с антимикробными свойствами. На сегодняшний день для множества описанных антимикробных пептидов (АМП) из природных источников показано потенциальное применение в медицине. При использовании этих пептидов в медицинских целях возникает необходимость повышения их селективности и обеспечения антимикробной активности в различных условиях. Разработка синтетических АМП позволяет вносить модификации для повышения стабильности и снижения токсичности пептидов, создавая тем самым соединения с заданными свойствами, необходимыми для эффективной борьбы с конкретными патогенами.

В данном исследовании мы применили метод контролируемого мутагенеза с целью разработки новых антимикробных соединений-аналогов известных АМП. Для достижения поставленной задачи мы разработали метод получения измененных антимикробных пептидов в различных системах экспрессии грам-положительных и грам-отрицательных бактерий (*B. subtilis* и *E. coli*). Для них сконструировали плазмидные вектора, экспрессирующие известные АМП (мелиттин, цекропин, апидаецин, Nm-AMP2 и Nm-AMP4) на основе челночного вектора pHT43 и вектора pET-min, который относится к экспрессионным плазмидам серии pET, соответственно. Мутагенез с использованием вырожденных праймеров позволил получить библиотеку векторов, экспрессирующих мутантные варианты выбранных антимикробных пептидов. В виду высокой токсичности полученных соединений по отношению к клеткам-продуцентам для отбора вариантов, экспрессирующих наиболее активные пептиды, нами была разработана методика негативной селекции. В результате были получены бактериальные штаммы-продуценты АМП, рост которых эффективно подавляется при индукции.

Кроме того, нами был предложен способ внесения изменений в структуру АМП с использованием различных белков, участвующих в посттрансляционных модификациях лантибиотиков. Лантибиотики – это антимикробные пептиды со структурными элементами, значительно повышающими их антимикробную активность и стабильность. Нами на основе интегративной плазмиды pMUTIN4 был получен вектор, содержащий гены селективной дегидратации *nisB*, циклазу *nisC*, липопротеин *nisI* и транспортер *nisT*. Рекомбинантную протеиназу *nisP*, ответственную за финальную стадию созревания лантибиотика, а именно отщепление сигнального пептида, получали отдельно в системе *E. coli*. Далее мы планируем модифицировать штаммы *B. subtilis* 168HTи WB008N с помощью полученного вектора и получить библиотеки экспрессионных плазмид, кодирующие мутантные формы низина и провести их анализ на антимикробную активность экспрессируемых пептидов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№23-15-00084).

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО БАКТЕРИЦИДНОГО СРЕДСТВА РОССИЙСКОГО ПРОИЗВОДСТВА В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

В. Н. Качан, В. Н. Прудникова, С. В. Копылова, Н. Н. Шуклина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vitaliaprudnikova@gmail.com

В настоящее время стоматологической практике применяется большое количество антибактериальных, бактерицидных средств, способные подавлять активность патогенных и условно патогенных микроорганизмов. Целью данной работы было установить целесообразность применения нового бактерицидного средства российского производства в стоматологической практике.

Исследования были проведены на беспородных крысах самцах $m = 180-200$ г., содержащихся в условиях вивария с достаточным количеством воды и пищи. Крысы были разделены на три группы: интактная группа – животные, которым не проводили обработку ротовой полости; контрольная группа – животные, которым проводили обработку ротовой полости бактерицидным средством для стоматологической практики (Республики Сербия); опытная – животные, которым проводили обработку ротовой полости бактерицидным средством российского производства. Обработку ротовой полости проводили ежедневно в течение 14 суток. Для цитологического исследования материал собирали с внутренней поверхности щеки, окрашивали по Романовскому-Гимзе. Подсчитывали индексы кератинизации и дифференцировки.

Было показано, что спустя 14 суток у опытной группы животных количество макрофагов возросло 1,7 раза по сравнению с группой «интактные животные», и было сопоставимо с уровнем клеток в контрольной группе. При подсчете нейтрофилов установлено, что на 14 сутки их количество увеличилось в опытной группе на 23%, тогда как в контрольной этот показатель был сопоставим с таковым в интактной группе. На фоне увеличения количества клеток способных к фагоцитозу нами наблюдалось снижение индекса кератинизации: для контрольной группы он составил $0,27 \pm 0,04$, для опытной – $0,24 \pm 0,02$, что составляет примерно 80% от показателя у интактных животных ($p \leq 0,05$).

В ходе исследования так же подсчитывалось количество двуядерных эпителиоцитов. В контрольной группе на 14 сутки от начала эксперимента индекс дифференцировки составлял $2,67 \pm 0,58$ ($p \leq 0,05$), тогда как в опытной группе – $4,50 \pm 0,12$ ($p \leq 0,05$), при данном показателе в интактной группе – $1,57 \pm 0,33$.

Рост количества двуядерных эпителиоцитов, снижение индексов кератинизации и дифференцировки на фоне увеличения количества макрофагальных клеток может свидетельствовать об увеличении пролиферации буккального эпителия и активном запуске процесса репарации.

Таким образом, по своим характеристикам новый российский биоцид не уступает бактерицидному веществу зарубежного производства широко применяемому в стоматологической практике.

УСТОЙЧИВОСТЬ К ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ И ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ *ELIZABETHKINGIA ANOPHELIS* SUBSP. *ENDOPHYTICA*, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ СЫРОГО МОЛОКА

Д. Д. Кашина^{1,2}, П. А. Андриянов^{1,2}, А. И. Тютрина^{1,2}, А. Н. Меньшикова^{1,2}, Е. А. Климентьева^{1,2}, П. А. Журилов^{1,2}

¹ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3;
dasha.kashina99@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Elizabethkingia anophelis (*Ea*) – новый патоген с множественной лекарственной устойчивостью, вызывающий тяжелые инфекции у человека по всему миру. В данном исследовании сообщается о первом случае выделения *Ea* в России и первом выделении из сырого коровьего молока.

Целью настоящей работы была фенотипическая, молекулярно-генетическая характеристика штамма *Ea*.

Штамм *Ea* ML-44 был выделен на среде Эндо в рамках исследования по бактериологическому мониторингу сырого молока. Единичные колонии высевали на триптон-соевый агар. Исследуемый изолят имел морфологию грамотрицательных палочек, обладал каталаза- и оксидаза-положительным фенотипом. Биохимические свойства определяли с помощью набора ENTEROtest 24 N. Идентификацию штамма проводили посредством секвенирования гена 16s рРНК. Консенсус, собранный из полученных чтений, был сравнен с референтными последовательностями базы данных EZBioCloud. Изолят ML-44 имел процент идентичности 99,71% с *Ea* subsp. *endophytica* JM-87. Оценку спектра чувствительности изолятов к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом (EUCAST 2021). Штамм ML-44 демонстрировал устойчивость к 28 антибиотикам из 33 исследуемых. Изучение гемолиза проводили путем посева культур на 5% кровяной агар. *Ea* продемонстрировал α-гемолиз через 48 ч в отношении эритроцитов кролика и барана.

Полногеномное секвенирование проводили с использованием Illumina HiSeq 1500 методом paired-end. Сборка производилась с помощью Unicycler v0.4.8. в PATRIC. Сборка генома ML-44 содержала 31 контиг с размером генома 4,03 млн п.н. и содержанием GC 35,4%. Аннотирование осуществлялось с использованием сервера RAST. Филогенетическое дерево, основанное на сравнении последовательности всего генома, было реконструировано с помощью программы REALPHY. Штамм ML-44 кластеризовался вместе со штаммом F3201, выделенным от человека. Оба штамма входили в общую вкладку «endohytica» и образовывали отдельный субкластер. Расчет значений OrthoANI проводился с использованием инструмента OAT. Тепловая карта была визуализирована в TBtools. Значение ANI для пары ML-44-F3201 было самым высоким среди всех других штаммов. Эти данные согласуются с результатами филогенетического анализа REALPHY. Поиск факторов устойчивости к антибиотикам и факторов патогенности был проведен у 7 штаммов *Ea*, включая штамм ML-44. Было найдено не менее 29 гомологов генов устойчивости к антибиотикам, а также 92 гомолога факторов патогенности. Все обнаруженные гомологи были сгруппированы в подгруппы по механизму действия. Таким образом, молоко может быть источником штаммов *Ea*, обладающих набором факторов вирулентности и устойчивости к антибиотикам. Дальнейший мониторинг этого патогена может быть полезен для предотвращения его широкого распространения.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КУРСА ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЛЮНЫ ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

А. О. Каширина¹, А. В. Суровезина^{1,2}, А. С. Федотова^{1,2}, С. В. Соколовская¹, Н. Н. Нежкина^{1,3}, А. К. Мартусевич^{1,2}

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anastasiya-kashirina@yandex.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Ивановский государственный медицинский университет, 153012, Иваново, просп. Шереметевский, 8

Целью данного исследования служила оценка физико-химических параметров слюны пожилых людей в зависимости от наличия регулярных физических тренировок.

В исследование было включено 94 человека (средний возраст – $64,7 \pm 2,9$ лет) без тяжелой хронической патологии. Данная группа лиц включала 49 человек, занимающихся регулярными тренировками на базе ФОКа (основная группа). Всех пациентов обследовали в 2 контрольных точках: при включении в проект (и начала тренировок – для основной группы) и через 6 месяцев. В каждой контрольной точке у обследуемых лиц получили образцы слюны в стандартных условиях. Из каждого образца слюны приготавливали микропрепараты (кристаллоскопические фации) путем нанесения на предметное стекло каплю объемом 100 мкл. Описание кристаллограмм производили с применением собственной системы полуколичественных показателей, основными из которых являлись кристаллизуемость (Кр), индекс структурности (ИС), степень деструкции фации (СДФ) и выраженность краевой зоны (Кз).

Анализ исходного состояния кристаллогенных свойств смешанной слюны людей сформированных групп позволил установить, что они были идентичны по рассматриваемым параметрам. В дальнейшем у всех обследуемых лиц происходило ухудшение качественного и количественного состава слюны, что визуализировано по кристаллоскопической картине биологической жидкости. При этом темпы развития данных негативных тенденций были неодинаковы. Так, по количественному показателю кристаллограмм – кристаллизуемости – у представителей основной группы уровень снижался на 7%, не достигая статистически значимого падения.

Напротив, у лиц группы сравнения уменьшение Кр составило 9% относительно исходных значений ($p < 0,05$). Аналогичная тенденция выявлена и в отношении основного качественного критерия – ИС, который значимо снижался только у людей, включенных в группу сравнения ($p < 0,05$), оказываясь ниже уровня, полученного для основной группы во второй точке наблюдения. По степени деструкции фации и выраженности краевой (белковой) зоны фиксировали сходную динамику, свидетельствующую о статистически значимых изменениях параметров между контрольными точками (СДФ – в сторону увеличения, Кз в сторону снижения; $p < 0,05$ для обоих случаев).

Проведенное лонгитудинальное исследование позволило установить, что за полугодичный период у пожилых людей продолжают углубляться метаболические нарушения, связанные со старением. Это в том числе проявляется в негативных сдвигах кристаллогенных свойств слюны. В то же время регулярные физические тренировки позволяют снизить темпы ухудшения состава слюны.

Исследование выполнено в рамках программы «Приоритет 2030» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского).

СКРИНИНГ СУБСТРАТОВ И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ДЛЯ НАРАЩИВАНИЯ БИОСУРФАКТАНТОВ НА СУБСТРАТАХ ИЗ ГОРОДСКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ

А. А. Кириченко, Л. Р. Бикташева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
AnAKirichenko@stud.kpfu.ru

Выращивание биосурфактантов на отходах является одним из перспективных направлений в области биотехнологии. Биосурфактанты – это вторичные метаболиты, вырабатываемые микроорганизмами в процессе их жизнедеятельности, биологически активные вещества, которые обладают поверхностно-активными свойствами и широким спектром применения в различных отраслях промышленности и экологии. Однако, производство биосурфактантов на сегодняшний день является достаточно затратным и требует использования специальных субстратов для культивации микроорганизмов-продуцентов. Вместе с тем, огромное количество отходов, таких как сельскохозяйственные остатки, пищевые отходы, лесопромышленные отходы и другие, накапливаются и не используются эффективно. Использование отходов агропромышленного комплекса в качестве субстратов для выращивания биосурфактантов представляет собой эффективный способ утилизации отходов и одновременно получения ценных продуктов. Такой подход позволяет снизить затраты на производство биосурфактантов и сделать его более экологически устойчивым.

Целью данной работы стал скрининг и подбор субстратов из органических отходов, полученных от предприятий г. Казань и г. Набережные Челны, для выращивания биосурфактантов.

Из отобранных отходов было проведено выделение изолятов микроорганизмов. Всего было отобрано 37 штаммов из исходных отходов. Выделенные изоляты были оценены с точки зрения наличия у них эмульгирующих способностей и способностью к снижению поверхностного натяжения воды. На первом этапе проходила оценка данных способностей на традиционной среде с глицерином. На следующем этапе была проведена подбор более дешевых субстратов для наращивания биосурфактантов. Для этого было выбрано 3 типа субстратов – картофельные очистки, отработанное фритюрное масло, жмых подсолнечника. Оценка эффективности всех выделенных изолятов на выбранных отходах проводилось с помощью оценки степени снижения поверхностного натяжения.

Наиболее подходящим субстратом является жмых подсолнечника среди изученных субстратов. Данный субстрат обеспечивает максимальное снижение поверхностного натяжения и самый высокий индекс эмульгирования для наибольшего числа исследованных штаммов. 4. Для наилучших штаммов была проведена оценка видовой принадлежности методом секвенирования по Сэнгеру. Среди изученных штаммов наиболее эффективным является штамм, относящийся к виду *Bacillus toyonensis*, позволяющий достичь наименьшего поверхностного натяжения и наивысшей эмульгирующей способности на большинстве субстратов, а также максимальных их значений. Таким образом наиболее эффективной парой является культивирование штамма *Bacillus toyonensis* на жмыхе подсолнечника.

СОСТАВ И РАЗВИТИЕ ЛЕТНЕГО ФИТОПЛАНКТОНА ПРИПЛОТИННОГО УЧАСТКА ГОРЬКОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

А. А. Кирсанова, Е. М. Шарагина, Е. Л. Воденеева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nastykirskirsanova@yandex.ru

Водохранилища играют важную роль в социально-экономическом развитии многих территорий. Однако зарегулирование рек плотинами ГЭС может оказывать негативное антропогенное воздействие. Фитопланктон является важнейшим компонентом водных экосистем, его состав и степень развития могут быть показательными при оценке экологического состояния водоёмов.

Цель исследования – анализ и оценка состава фитопланктона в приплотинном участке Горьковского водохранилища. Материалом для данной работы послужили результаты обработки проб фитопланктона, собранных в августе 2022 г. в рамках экспедиции «Плавучий университет» (на 10 станциях приплотинного участка: у населенных пунктов Городец, Чкаловск, Юрьевец, Сокольское, Пучеж), а также сборов в августе 2023 года на станциях, расположенных в зоне непосредственного влияния плотины.

Приплотинное расширение Горьковского водохранилища, включающее верхний бьеф ГЭС, относится к самому нестабильному участку водохранилища по развитию фитопланктона. Летом и осенью данный участок наиболее подвержен волновым воздействиям, оказывающим влияние на развитие фитопланктона. Величины биомассы фитопланктона данного участка водохранилища могли колебаться в течение одного сезона от 0,5 до 40 г/м³, средние за вегетационный период от 1 до 10 г/м³, чаще соответствуя эвтрофному уровню.

В 2022 году численность варьировала от 9015 до 18904 клеток/л, биомасса от 0,763 до 1,207 г/м³. Основу численности (до 97%) и биомассы (54%) формировали синезеленые водоросли. Основными доминантами являлись *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing и *Pseudoanabaena mucicola* (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe. Распределение фитопланктона по станциям было относительно равномерным.

В 2023 году степень развития фитопланктона и состав доминирующих групп был схожим. Численность варьировала от 29700 до 37176 клеток/л, биомасса от 2,345 до 3,852 г/м³. Среди доминирующих форм выросли показатели численности *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault, достигая 30744 клеток/л, тогда как развитие представителей рода *Microcystis* уменьшилось. Значительно возросла численность и биомасса представителей отдела *Bacillariophyceae* (до 0,959 г/м³), увеличилась встречаемость родов *Aulacoseira*, *Cyclotella*, *Stephanodiscus*.

Таким образом, во все годы исследования в летний сезон отмечалось массовое развитие цианобактерий, трофический статус данного участка водохранилища оценивался как мезо-эвтрофный. В составе доминирующего комплекса выявлены тривиальные возбудители «цветения» волжских вод – виды рода *Microcystis* (*M. aeruginosa* *M. wesenbergii* (Kützing) Kützing,) и *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault).

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА***ESCHERICHIA MARMOTAE* M-12*****Е. А. Климентьева*¹, *П. А. Журилов*^{1,2}, *А. Н. Меньшикова*¹, *Д. Д. Кашина*¹, *А. И. Тютрина*¹**¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
*kat-nnov10@yandex.ru*²ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3

Escherichia marmotae, представитель порядка *Enterobacteriales* был впервые описан в 2015 году. Дикие и сельскохозяйственные животные могут быть резервуаром данной бактерии. Исследование патогенного потенциала новых микроорганизмов, а также мониторинг их распространенности среди диких животных является областью повышенного интереса среди научного общества.

Целью данной работы явилась микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолята М-12, выделенного от диких грызунов Нижегородской обл.

Всего было исследовано 185 проб внутренних органов от 37 тушек пойманных диких грызунов.

По результатам идентификации изолята М-12 с применением тест-системы ENTEROtest 24N удалось установить лишь принадлежность изолята к роду – *Escherichia*.

Таким образом, дополнительно, М-12 был идентифицирован методом секвенирования и анализа последовательности гена 16S рРНК. Было установлено, последовательность гена 16S рРНК изолята М-12 была идентична на 99,78% последовательности типового штамма *E. marmotae* НТ073016.

Оценку спектра чувствительности исследованного штамма к антибиотикам была определена диско-диффузионным методом в соответствии с EUCAST 2023. Из группы бета-лактамов устойчивость была обнаружена к ампициллину, амоксиклаву, а среди аминогликозидов к тобрамицину.

Определяли некоторые фенотипические признаки вирулентности *in vitro*, такие как: адгезия к эритроцитам человека, инвазия и адгезия на эукариотических клетках Нер-2, а также синтез капсулы. Штамм *E. marmotae* М-12 обладал капсулоположительным фенотипом, высокой адгезией к эритроцитам человека и клеткам Нер-2 и был неинвазивным по отношению к клеткам Нер-2.

Также определена LD50 *E. marmotae* М-12 для мышей после введения различных доз бактерий внутрибрюшинно, интраназально и внутривенно. Штамм М-12 был авирулентным для лабораторных мышей.

На этапе молекулярно-генетической характеристики штамма М-12 было выполнено секвенирование генома штамма М-12 на платформе Illumina. Филогеномный анализ *E. marmotae* М-12. Реконструкция филогеномного древа выполнена с помощью онлайн инструмента REALPHY 1.13. В целом филогеномный анализ показал рассредоточенную филогенетическую структуру среди штаммов различного происхождения.

Кроме того, был выполнен анализ вирулома штамма М-12 и сравнительный анализ штаммов *E. marmotae* различного происхождения: здоровых или больных людей и животных, а также окружающей среды. Основываясь на сравнительном анализе вирулома, мы предполагаем, что капсула K1 и порин OmpA *E. marmotae* могут быть ключевыми факторами вирулентности.

Escherichia marmotae остается новым микроорганизмом с малоизученным патогенным потенциалом для человека и животных.

АУКСИНПРОДУЦИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ГРИБА *OIDIODENDRON MAIUS*

О. Б. Кобякова¹, И. В. Стручкова¹, М. Н. Агеева²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kobyakova.olya@bk.ru

²ООО «Микофит», 606440, Бор Нижегородской обл., ул. Интернациональная, 56Б

Для стимуляции роста и повышения продуктивности растений в сельском хозяйстве часто используют симбиотические микроорганизмы – продуценты фитогормона индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). Улучшать развитие ценных пищевых растений сем. *Ericaceae*, таких как голубика и брусника (р. *Vaccinium* L.) способны грибы эрикоидной микоризы, например, *Oidiodendron maius* Barron. Показано, что единственный имеющийся в российских коллекциях штамм *O. maius* VKM F-3860 образует ИУК, и этот процесс зависит от наличия триптофана (ТРИ) как предшественника.

Цель нашей работы – установить количество ИУК и ее долю среди родственных индолов – возможных интермедиатов путей синтеза ауксинов – у штамма *O. maius* VKM F-3860 при его выращивании в присутствии ТРИ и без него.

Гриб стационарно выращивали 23 суток на среде Чапека, с добавлением ТРИ (в конечной концентрации 2,5мМ) или без него. Культуральную жидкость (КЖ) отфильтровывали, мицелий высушивали и взвешивали. Аликвоты (10 мл) КЖ закисляли до pH 3,0, добавляли двойной объем этилацетата, после перемешивания охлаждали (-20°C). Этилацетатные экстракты ИУК и родственных ей индолов («суммарные индолы») отделяли от кристаллов льда и выпаривали на роторном испарителе N-1000 (EYELA, Япония). Остаток растворяли в 2 мл метанола. Индолы метанольного раствора разделяли методом ТСХ в смеси н-гексан : этилацетат : изопропанол : уксусная кислота = 40 : 20 : 5 : 1 и проявляли хроматограмму реактивом Сальковского. Долю ИУК среди суммарных индолов рассчитывали на основе значений интенсивности окраски, полученных с применением ImageJ для пятен индолов на хроматограмме. Измеряли оптическую плотность продукта, образуемого индолами раствора с реактивом Сальковского в соотношении 1:2 (спектрофотометр ЕРОСН, США; $\lambda = 530$), определяли их количество по калибровочному графику, построенному с применением стандартных растворов ИУК, и пересчитывали на 1 мл КЖ и на 1 г сухого мицелия.

Установлено, что для *O. maius*, росшего на среде без ТРИ, содержание суммарных индолов в среднем составляло 1 мкг/мл КЖ (2029 мкг/г мицелия). Наличие ТРИ в среде роста увеличивало эти показатели в 7 и 4 раза соответственно. Как в присутствии ТРИ, так и без него в КЖ гриба обнаружены индольные соединения, не являющиеся ИУК, но ИУК составляла основную долю среди суммарных индолов (76-80%).

Таким образом, нами подтверждена способность *Oidiodendron maius* VKM F-3860 продуцировать индолилуксусную кислоту, преобладающую среди суммарных индолов КЖ. Это свидетельствует о наличии у него ростостимулирующих свойств. Выявление других индолов указывает на возможные пути синтеза ИУК у этого организма.

ВЛИЯНИЕ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА НА НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ *IN VITRO*

*Л. К. Ковалева*¹, *Е. А. Степанова*², *А. А. Барина*³, *А. В. Суровегина*^{3, 4}, *А. К. Мартусевич*^{3, 4}

¹Кубанский государственный медицинский университет, 350063, Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4;

²ГБУ «Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения города Москвы», 123182, Москва, ул. Пехотная, 3

³Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

⁴ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Кровь, являясь незаменимым биологическим ресурсом, служит основой современной трансфузиологии, хирургии и реаниматологии. Без применения консервантов форменные элементы крови теряют жизнеспособность, а физико-химические показатели плазмы необратимо изменяются. С другой стороны, введение в кровь консерванта также приводит к некоторым сдвигам параметров гомеостаза данной биологической жидкости, поэтому поиск способов максимального сохранения крови или адекватного восстановления ее состояния перед проведением трансфузии остается актуальным. Целью исследования служила оценка возможности использования синглетного кислорода (СК) для улучшения свойств консервированной крови.

Для проведения исследования использованы образцы цельной консервированной крови здоровых доноров ($n = 10$), полученной на Нижегородской станции переливания крови. Каждый образец разделяли на 5 порций по 5 мл. Первая порция являлась контрольной, на нее никаких воздействий не оказывали. Вторую порцию обрабатывали путем барботажа кислородно-озоновой смесью (концентрация озона – 500 мкг/л), третью – чистым кислородом, четвертую и пятую – газовой смесью, содержащей СК (при мощности генератора 50 и 100% соответственно). Синтез озono-кислородной смеси осуществляли с помощью озонатора «Медозонс-БМ» (Россия). Воздушный поток, содержащий СК, получали с применением аппарата «Airnergy» (Германия). Экспозиция после воздействия составляла 3 минуты.

В результате проведенных исследований показано, что обработка консервированной крови газовым потоком, содержащим СК, приводит к оптимизации баланса про- и антиоксидантных систем плазмы крови и эритроцитов. Состояние данного баланса, отражающего окислительный метаболизм, оценивали методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции, а также измерением концентрации малонового диальдегида в плазме крови и эритроцитах. После обработки цельной крови газовым потоком, содержащим СК, в плазме крови фиксировали снижение интенсивности свободнорадикальных процессов на 16%, повышение общей антиоксидантной активности на 38% и уменьшение концентрации малонового диальдегида на 24% относительно исходного уровня. В эритроцитах после воздействия СК также наблюдали снижение интенсивности свободнорадикальных процессов на 7% и уменьшение концентрации малонового диальдегида на 19% относительно исходного уровня. Это однозначно свидетельствует об антиоксидантных свойствах изучаемого газового потока.

ЗЕЛЕННЫЕ НАСАЖДЕНИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ БОРЬБЫ С ИЗМЕНЕНИЯМИ МИКРОКЛИМАТА (НА ПРИМЕРЕ МЕГАПОЛИСА Г. НИЖНИЙ НОВГОРОД)

Т. А. Ковалева, Н. И. Зазнобина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kovalevataisia79@gmail.com

Растительность на нашей планете играет особую роль, поглощая углерод и преобразуя его в органические соединения. Выбросы парниковых газов в атмосферу, в частности монооксида и диоксида углерода вследствие антропогенной активности (особенно в городах), являются основной причиной глобального потепления. Исследование проводилось в г. Нижний Новгород – административном центре Приволжского федерального округа и Нижегородской области площадью 51 496 га с населением 1 257 260 человек. Благодаря особенностям ландшафта город делится на две орографические части: правобережную (Нагорную) и левобережную (Заречную), каждая из которых характеризуется особым микроклиматом. Согласно данным Росгидромета в низинных административных районах средняя температура января составляет – 11,6°C, а июля +18,4°C, в нагорных административных районах в январе -12°C, а в июле +18,1°C. Рост средней годовой температуры воздуха по городу в целом составляет 0,3°C/10 лет.

Цель работы – оценить влияние зеленых насаждений на микроклимат территории г. Н. Новгород. Для оценки запаса и секвестрации углерода древесно-кустарниковой растительностью использовались полевая и расчетный методы. Полевым методом осуществлялось рекогносцировочное обследование территорий административных районов г. Н. Новгорода в соответствии с полевым руководством «Understanding i-Tree: Summary of Programs and Methods». Запас углерода в зеленых насаждениях рассчитывался с помощью аллометрических уравнений с применением пакета R allodb, содержащего набор данных для деревьев умеренного климатического пояса. Секвестрация углерода рассчитывалась на основе оценок годового прироста диаметра.

В ходе работы инвентаризовано 6287 деревьев. Экстраполяция данных на всю территорию г. Н. Новгорода позволила оценить, что всего на территории города произрастает 10,5 млн. деревьев (205 экз./га), причем распределение зеленых насаждений между Заречной и Нагорной частями города практически одинаковое. Общий запас углерода в древесных насаждениях г. Н. Новгорода составляет 2,06 млн. тонн, секвестрация углерода – 14,5 тыс. т/га/год.

В годовом температурном ходе для города в целом наибольшие изменения отмечаются в зимний сезон (скорость повышения абсолютного минимума температуры воздуха составляет 0,9°C/10 лет), когда зеленые насаждения находятся в стадии покоя. В Заречной части г.Н.Новгорода сосредоточен весь промышленный потенциал города, который совместно с особенностями рельефа способствует повышению температуры воздуха на 0,4-0,3°C по сравнению с Нагорной. При снижении доли растительного покрова эта разница будет увеличиваться.

В летний период зеленые насаждения обладают максимальной поглотительной способностью, эффективнее очищая воздух от парниковых газов и поллютантов, стабилизируя микроклимат города и формируя комфортную среду.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНИ ПЕЧЕНИ В ХОДЕ РЕГЕНЕРАЦИИ НА ФОНЕ ИНДУЦИРОВАННОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

Д. С. Козлов^{1,2}, С. А. Радимова¹, Д. П. Крылов^{1,2}, А. И. Гаврила¹, А. М. Можеров¹, Д. С. Кузнецова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
mail-kozlov2015@yandex.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Введение. Всемирная организация здравоохранения прогнозирует, что к 2025 году сахарным диабетом (СД) будут страдать 300 миллионов человек во всем мире. СД характеризуется системным нарушением обмена веществ и в ряде случаев СД приводит к изменению углеводного, липидного и белкового обмена печени и, как следствие, неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). У пациентов, перенесших обширную гепатэктомию, СД имеет тенденцию вызывать послеоперационную печеночную недостаточность. В связи с этим необходима разработка новых подходов для быстрой интраоперационной оценки состояния ткани печени при наличии сопутствующей патологии печени.

Целью данной работы стал анализ метаболического статуса печени в ходе регенерации после частичной гепатэктомии на фоне индуцированного сахарного диабета 1 типа.

Материалы и методы. Индукция сахарного диабета 1 типа у крыс линии Wistar была проведена путем инъекции стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг. После подтверждения индукции СД1 было сформировано 4 группы: нормальная регенерация после 30% и 70% гепатэктомии соответственно; регенерация на фоне СД1 после 30% и 70% гепатэктомии соответственно. Для анализа состояния ткани печени исследовали *ex vivo* образцы, взятые на 0, 3, 7 день после резекции. Была проведена морфометрическая и гистологическая оценка регенераторного процесса. Кроме того, был оценен метаболический статус гепатоцитов по интенсивности аутофлуоресценции и времени жизни флуоресценции различных форм НАД(Ф)Н с применением время-разрешённого метаболического имиджинга (FLIM). Был проведен анализ экспрессии генов, ассоциированных с развитием окислительного стресса, регуляцией обмена липидов и углеводов, регенерацией печени.

Результаты. В ходе работы были определены оптические критерии сниженного регенеративного потенциала печени при индуцированном СД1. С помощью метода FLIM было показано, что в ходе регенерации на фоне СД1 происходит снижение интенсивности окислительного фосфорилирования и значительное замедление метаболических перестроек, ассоциированных с регенерацией печени. В ходе анализа экспрессии генов в печени при СД1 было выявлено снижение экспрессии генов, связанных с метаболизмом глюкозы и липогенезом *de novo* (*Mlxipl*, *Srebft1*, *Acaca*), а также увеличение экспрессии *Cyp2e1* и *Ppara*, регулирующих продукцию АФК и окисление липидов при индуцированном СД1. Эти процессы коррелируют с увеличением экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой (каталаза, глутатионсинтаза и *Sirt1*). В ходе регенерации на фоне СД1 было также выявлено значительное изменение экспрессии генов *Ppara*, *Cyp2e1*, *Pbga* *Tnfrsf1a* и *Hgf* по сравнению с нормальной регенерацией. Данные изменения могут свидетельствовать о развитии окислительного стресса, митохондриальной дисфункции, воспаления и снижения регенераторного потенциала печени.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда №23-25-00100.

АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КРУПНЫХ КОМПЛЕКСОВ МУРАВЕЙНИКОВ *FORMICA S. STR.* В РАЗЛИЧНЫХ ГЕОБОТАНИЧЕСКИХ РАЙОНАХ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

А. А. Козлова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
akatoe-nn@yandex.ru

Фитоценозы Нижегородской области представлены неравномерно распределёнными хвойными, смешанными хвойно-мелколиственными, реже – луговыми сообществами, во многих из которых образуются комплексы муравейников рода *Formica* (подрод *Formica s. str.*). Известно, что размеры комплексов оцениваются в следующей градации: малые – до 10 жилых муравейников, средние – 10-30, крупные – более 30, обширные – более 100 муравейников. В настоящем исследовании рассматривается картографический подход к оценке распределения крупных комплексов муравейников рыжих лесных муравьев в растительных сообществах региона.

В ходе исследования проводилась работа с данными (результаты полевых сборов 2014-2022 гг.) инвентаризации комплексов муравейников в следующих населенных пунктах: окрестности с. Старая Пустынь, д. Анисимово, с. Бочиха, с. Наумовка. Эти населенные пункты можно отнести к зоне средневозрастных, высокополнотных (степень сомкнутости кроны 0,7-0,8), средне- или низкобонитетных (III-IV класс продуктивности) смешанных лесов с преобладанием хвойных, реже – лиственных пород. Согласно данным геоботанического районирования Нижегородской области, локалитеты входят в Арзамасско-Вадский, Чкаловско-Семеновский дубовый и Выксунско-Сережинский елово-сосновый ботанико-географические подрайоны. Обнаруженные комплексы образованы преимущественно малым (*Formica polycтена*), рыжим (*F. rufa*) и северным (*F. aquilonia*) лесными муравьями (в окрестностях с. Старая Пустынь также обнаружен волосистый лесной муравей *F. lugubris*).

Результаты были выгружены на цифровую карту в ПО ГИС «Аксиома». На карте каждый комплекс представляет собой скопление точек, где каждая точка – отдельный муравейник. В дальнейшем слой был преобразован в плоскостной – границы каждого комплекса образуют полигон, пересекающий либо входящий в определенный геоботанический район или подрайон. Так, Арзамасско-Вадский подрайон включает в себя 3 полигона (крупные комплексы из 78, 70 и один обширный комплекс из > 95 муравейников), Чкаловско-Семеновский – также 3 полигона (2 крупных комплекса, в составе которых 70 и 86 муравейников соответственно, и обширный на > 100 муравейников), в Выксунско-Сережинском – 1 полигон, соответствующий среднему комплексу из ~ 28 гнезд.

Таким образом, можно заключить, что геоботанические районы, образованные смешанными лесными фитоценозами с преобладанием хвойных пород, являются благоприятной средой для образования и дальнейшего разрастания комплексов. Также в таких сообществах чаще встречаются комплексы, образованные несколькими видами муравьев (*Formica rufa***F. polycтена*, *F. aquilonia***F. lugubris*), чем в исключительно хвойных лесах Нижегородской области. Вероятно, это объясняется частичным территориальным смешением пограничных фитоценозов, для которых характерны разные преобладающие виды муравьев.

МУЛЬТИФОТОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ НА ФОНЕ ОСТРОГО ПЕЧЕНОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

В. А. Козлова¹, С. А. Родимова², Н. В. Бобров^{2,3}, А. М. Можеров², М. М. Карабут², Д. С. Кузнецова²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kozlova.vera2002@yandex.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 602000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Приволжский окружной медицинский центр, 603001, Нижний Новгород, Нижне-Волжская наб., 2

Введение. Острое печеночное повреждение (ОПП) – сложный клинический синдром, при котором печень стремительно утрачивает свою функцию, что сопряжено с высоким риском летального исхода. Наиболее частой причиной развития ОПП является передозировка лекарственными средствами, включающими один из самых распространенных принимаемых препаратов – парацетамол. Более того, несмотря на высокий регенераторный потенциал здоровой печени, при остром повреждении он значительно снижается. Таким образом, актуальной задачей является как получение комплексных фундаментальных знаний о механизмах ОПП, так и выявление критериев снижения регенераторного потенциала печени при развитии ОПП. Одним из чувствительных маркером повреждения ткани печени является метаболический статус гепатоцитов, который можно оценивать с применением современных бесконтрастных методов мультифотонной микроскопии с FLIM (florescence lifetime imaging microscopy).

Цель работы. Выявление оптических критериев для оценки структурно-функционального состояния ткани печени при индукции регенерации на фоне сопутствующего острого печеночного повреждения.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на самцах крыс линии Wistar весом 300-400 г. В качестве токсического агента использовали раствор парацетамола в концентрации 1,5 г/кг веса животного. Индукцию регенерации проводили путем 30% и 70% гепатэктомии (ГЭ) через 24 часа после введения токсического агента. Анализ метаболического статуса гепатоцитов проводили на 3 и 7 день после ГЭ методом мультифотонной микроскопии с возможностью детекции времени жизни флуоресценции. Резецируемую часть печени исследовали в качестве контроля.

Результаты. Методом мультифотонной микроскопии выявляли обширные зоны со сниженным сигналом аутофлуоресценции кофактора НАДН, ассоциированные с зонами поврежденных гепатоцитов. Методом FLIM при развитии ОПП показано отсутствие резкого увеличения значений вкладов времен жизни флуоресценции связанной формы НАДН и НАДФН на 3 день регенерации, что является характерным для нормальной регенерации. **Заключение.** Были выявлены оптические критерии снижения регенераторного потенциала печени при сопутствующем ОПП, которые важны как с фундаментальной, так и с практической точки зрения, так как существует возможность приборной реализации методов мультифотонной микроскопии в клинике.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 23-25-00100.

АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ЭЛЕКТРОМА ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Е. А. Козлова¹, В. С. Сухов¹, Е. А. Запезалова²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
elizagreen21@yandex.ru

²ИОН ИПФ РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Традиционным предметом изучения для электрофизиологии растений являются стрессовые электрические сигналы (ЭС), развивающиеся в ответ на внешний стимул включая ожог, холод или механическое повреждение. При этом ЭС (в частности, потенциал действия и переменный потенциал) являются относительно хорошо изученными; анализ их показателей может использоваться для оценки состояния растения и исследования интеграции сигнальных путей при сочетанном действии внешних факторов. Однако в последние годы развивается новое направление исследований, опирающееся на концепцию электрома или совокупности электрической активности растений. В ряде работ показано, что оценка параметров электрома на основании анализа экстраклеточной активности растений, может быть эффективным инструментом выявления влияния на них неблагоприятных воздействий. Целью работы является анализ параметров электрома у проростков пшеницы в ответ на действие осмотического стресса.

В качестве объектов исследования использовались проростки пшеницы сорта Дарья, выращенные на песке при 24°C и 12-часовом световом дне. В возрасте 13 дней растения фиксировали на лабораторной установке, измерения проводились после суточной адаптации. Поверхностные электрические потенциалы измеряли при помощи трех хлорсеребряных макроэлектродов, расположенных вдоль второго листа на расстоянии 1,5 см друг от друга; электрод сравнения располагали на кончике листа; расстояние от корня до первого электрода составляло 3 сантиметра. Для каждого растения в течение 2 часов проводили запись электрической активности в покое, после чего к субстрату приливали 20 мл маннитола с осмотическим потенциалом -2мПа; далее запись продолжали в течение 2 часов.

Было выявлено, что стандартные отклонения поверхностного потенциала после действия стимула становились меньше по отношению к стандартным отклонениям потенциалов в состоянии покоя ($p < 0,05$); эффект был более выражен на больших расстояниях от зоны стимуляции (корень). Кроме того, после стрессового воздействия наблюдалось усиление различий между стандартными отклонениями поверхностных потенциалов на разных участках растения ($p < 0,05$); без стрессового воздействия такие различия отсутствовали.

Выявленное усиление различий между потенциалами для различных электродов может свидетельствовать о том, что при действии внешних стрессовых факторов сила связи различных участков растительного организма снижается. Вместе с этим, стандартное отклонение поверхностного потенциала в пределах записи с одного участка уменьшается; это означает, что, не смотря на ослабление связей вдоль листа, электрическая активность становится более стабильной для всех участков растения.

НЕ СВЯЗАННАЯ С ХИЩНИЧЕСТВОМ СМЕРТНОСТЬ ЗООПЛАНКТОНА ОЗЕРНОЙ ЧАСТИ ГОРЬКОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА И ВЕРХНЕЙ РЕЧНОЙ ЧАСТИ ЧЕБОКСАРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА (ПО ДАННЫМ 2023 Г.)

А. А. Колесников, В. С. Жихарев, Д. Е. Гаврилко, Р. Е. Воронин, Г. В. Шурганова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kolesnikov897@gmail.com

Зоопланктон – один из ключевых элементов пресноводных экосистем. Исследование причин и механизмов динамики зоопланктона сосредотачивается на рождаемости и скорости роста. При этом для построения динамических математических моделей, которые являются основным инструментом для прогнозирования и управления состоянием водных экосистем, необходимо иметь сведения о величинах естественной смертности. Целью работы был анализ изменения численности и биомассы планктонных ракообразных озерной части Горьковского водохранилища и верхней речной части Чебоксарского водохранилища, а также оценка доли мертвых особей рачкового зоопланктона в общей численности и биомассе зоопланктона. Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, отобранные в августе 2023 г. на 15 станциях. В зоопланктоне было обнаружено 50 видов, из них 25 – коловратки, 17 – ветвистоусые ракообразные, 8 – веслоногие ракообразные. В Горьковском водохранилище (за исключением приплотинного участка) средние показатели численности и биомассы ветвистоусых и веслоногих ракообразных составили $49,6 \pm 21,3$ тыс. экз./м³ и $0,88 \pm 0,54$ г/м³ соответственно. Существенное снижение этих показателей (до $35,3 \pm 7,0$ тыс. экз./м³ и $0,47 \pm 0,16$ г/м³ соответственно) наблюдалось ниже Нижегородской ГЭС. Зоопланктонный комплекс Горьковского и Чебоксарского водохранилищ были лимнофильными при существенном преобладании ракообразных. В Горьковском водохранилище преобладающее большинство травмированных особей принадлежало видам *Daphnia cucullata* (Sars, 1862), *Daphnia galeata* (Sars, 1864), *Mesocyclops leuckarti* (Claus, 1857), а также науплиальным и копеподитным стадиям веслоногих ракообразных. Смертность зоопланктона в речной части Чебоксарского водохранилища достигала наибольших значений среди видов *Bosmina longirostris* (O.F. Müller, 1785), *Chydorus sphaericus* (O.F. Müller, 1785), *Daphnia cucullata* (Sars, 1862), *Daphnia galeata* (Sars, 1864), и среди науплиальных и копеподитных стадий веслоногих ракообразных. Анализ смертности на исследованных акваториях показал, что доля мертвых особей в общей численности и биомассе рачкового зоопланктона была существенно выше на участках, расположенных в верхней речной части Чебоксарского водохранилища ($11,0 \pm 7,6\%$), чем в Горьковском водохранилище ($4,5 \pm 0,2\%$). Максимальная доля мертвых особей (25%) отмечена на участке, расположенном непосредственно ниже гидросооружений (г. Городец). Столь высокие значения смертности связаны с прохождением водных масс через гидросооружения при гибели крупных лимнических фильтраторов и хищников. По мере удаления от гидросооружений средний показатель смертности уменьшался до $7,6 \pm 1,2\%$, происходило восстановление структуры зоопланктона. При прохождении через турбины ГЭС наблюдалась трансформация сообщества зоопланктона, выражающаяся в гибели ряда видов ракообразных.

ЭЛЕКТРОСОНТЕРАПИЯ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА СТУДЕНТОВ С РАЗНЫМИ ТИПАМИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Д. С. Коломеец, Ю. Г. Лазаренко

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева,
443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34;
dkolomeets@bk.ru

Физиотерапия, в частности, электросонтерапия, имеет ряд достоинств, по сравнению с медикаментозным лечением. Сеансы электросонтерапии не вызывают привыкания, и лечат бессонницу естественным для организма путем, вызывая реакцию торможения в нервной системе, при помощи электрического тока, после чего организм пациента восстанавливается.

Целью исследования являлось изучение влияния электросонтерапии на людей с разными типами нервной системы. Эксперимент проводился на студентах Самарского университета, которые были разделены на две равные группы: люди с сильным типом нервной системы, люди со слабым типом нервной системы (по Павлову). Испытуемые подвергались сеансу электросна один раз в день, продолжительностью 60 минут. До и после электросонтерапии испытуемых подключали к пульсоксиметру, чтобы выяснить, оказывают ли сеансы электросна на показатели сердечно-сосудистой системы человека. Эксперименты проводились с соблюдением всех биоэтических правил.

Нами было выявлено, что индекс Баевского статистически значимо снижается у людей и с сильным и со слабым типами нервной системы. Активность симпатического отдела вегетативной нервной системы имеет тенденцию к снижению у обоих типов. Также нами было получено статистически значимое изменение активности парасимпатического отдела у людей с сильным типом нервной системы. Она имеет тенденцию к повышению после сеанса электросонтерапии. Частота сердечных сокращений статистически значимо снижается у сильного типа. У слабого типа имеется тенденция к понижению. Эти данные могут говорить о седативном действии сеанса электросонтерапии.

Мы применяли в нашем исследовании подход к анализу R-R интервалов, в результате которого кроме частоты генерации потенциалов действия, учитывались показатели интервалов, для количественной оценки пейсмекерной активности сердца, а также идентификации типа активности клеток. В результате нам удалось выяснить, что у людей со слабым типом нервной системы энтропия повышается, что может свидетельствовать о росте разнообразия интервалов R-R, соответственно, о росте их неоднородности. Показатель $Entp$ имеет тенденцию к повышению у людей с сильным типом нервной системы после сеанса электросонтерапии.

Результаты проведенного исследования могут свидетельствовать о седативном действии сеанса электросонтерапии на людей с разными типами нервной системы, причем, на людей с сильным типом нервной системы аппарат оказывает успокаивающий эффект быстрее, чем на людей со слабым типом. Исходя из этого мы предполагаем, что для лучшего эффекта, людям со слабым типом темперамента следует продлить время воздействия аппарата.

ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ PLIM В МОДЕЛЯХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

А. Д. Комарова^{1, 2}, И. Н. Дружкова¹, С. Д. Синюшкина¹, И. С. Критченков³, В. И. Щеславский¹, М. В. Ширманова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
komarova.anastasii@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9

Оценка кислородного статуса в клетках и тканях имеет принципиальное значение для прогноза онкологических заболеваний и процесса лечения. Например, таргетная антиангиогенная (анти-VEGF) терапия приводит к блокированию ангиогенеза в опухолевой ткани, в результате снижается поступление кислорода и питательных веществ к клеткам опухоли. Фотодинамическая терапия требует наличия кислорода для образования активных форм кислорода, токсичных для клеток. Перспективным оптическим методом оценки кислородного статуса в клетках и тканях является фосфоресцентный имиджинг с временным разрешением (Phosphorescence lifetime imaging, PLIM).

Целью работы было исследование кислородного статуса методом PLIM микроскопии при противоопухолевой терапии в модели и *in vivo*.

Исследования проводили на опухолевых клетках линии СТ26 (колоректальный рак мыши) на монослое *in vitro* и на модели опухоли СТ26, привитой на ухо мышам линии Balb/c *in vivo*. Анти-VEGF терапию опухолей препаратом Авастин (10 мкг/кг) проводили с 7 по 12 дни роста опухоли ежедневно. На 12-й день проводили микроскопическое исследование методом PLIM-микроскопии на лазерном сканирующем микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия), оснащенный SPC-150 платой время-коррелированного счета фотонов (Becker & Hickl GmbH, Германия). Полученные PLIM изображения обрабатывали в программе SPCImage 8.5. Для верификации данных, полученных методом PLIM, была проведена оценка гипоксической фракции в опухолевой ткани с использованием пимонидазола.

Был разработан протокол *in vivo* визуализации кислородного статуса опухолей с применением нового фосфоресцентного сенсора ISK9: локальная инъекция раствора ISK9 (250 мкмоль в 2 мкл PBS) за 30 мин до проведения эксперимента, двухфотонное возбуждение сенсора на длине волны 750 нм, детекция сигнала фосфоресценции в диапазоне 495-690 нм, время накопления сигнала фосфоресценции 120 с при мощности лазера 6 мВт. Методом PLIM-микроскопии с применением кислородного сенсора ISK9 было установлено, что все исследуемые опухоли имеют гипоксический статус. Однако, в группе леченых опухолей после воздействия препаратом Авастин гипоксия была более выраженная: время жизни фосфоресценции сенсора составило 8.5 мкс, тогда как в контрольных опухолях 6.9 мкс. Методом иммуногистохимии с использованием стандартного маркера гипоксии – пимонидазола установлено, что в опухолевой ткани при лечении увеличивается гипоксическая фракция клеток, что согласуется с данными PLIM-микроскопии.

В ходе исследования был разработан протокол визуализации нового фосфоресцентного сенсора ISK9 в опухолевой ткани *in vivo*. С применением разработанного протокола проведено исследование кислородного статуса опухолей методом PLIM-микроскопии *in vivo* и продемонстрировано изменение кислородного статуса на фоне терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 23-65-10005.

РОЛЬ ПУРИНЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В РЕГУЛЯЦИИ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ РЕТРОТРАПЕЦИЕВИДНОГО ЯДРА У КРЫС

А. Т. Конашенкова¹, А. И. Будаев²

¹Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева, 443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34;

konashenkova.an@gmail.com

²Самарский государственный медицинский университет, 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89

Ретротрапиевидное ядро (РТЯ) играет важную роль в регуляции дыхания за счет участия в механизмах центральной хеморецепции и наличия проекций к разным отделам дыхательного центра. В настоящее время актуальным является изучение нейромедиаторных механизмов, опосредующих регуляцию дыхания нейронами РТЯ. В частности, вызывает интерес пуринергическая система, а именно подкласс P2-рецепторов, которые предположительно локализованы в РТЯ и участвуют в модуляции активности его нейронов.

Цель работы состояла в анализе респираторных эффектов микроинъекций в РТЯ раствора агониста P2-рецепторов аденозинтрифосфата (АТФ).

Материалы и методы. Поставлены острые опыты на наркотизированных крысах ($n = 7$) с соблюдением правил биоэтики. Регистрировали внешнее дыхание (спирограмму) и электромиограмму (ЭМГ) диафрагмальной мышцы до и после микроинъекций АТФ (10-7 Моль; 0,2 мкл) в РТЯ. Анализировали амплитудные и частотные параметры спирограмм и ЭМГ. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы SigmaPlot.

Микроинъекции АТФ в РТЯ стимулировали внешнее дыхание и активность диафрагмы. Так, отмечалось достоверное увеличение частоты дыхания, особенно заметное на 1-10-й мин регистрации (максимальный прирост параметра составил 9,7%; $p < 0,05$). Учащение дыхания можно считать следствием укорочения обеих фаз дыхательного цикла, о чем говорит уменьшение длительности вдоха (9,0%; $p < 0,05$) и выдоха (8,3%; $p < 0,05$) от исходного уровня. Изменения фазы вдоха совпадали с динамикой длительности инспираторных залпов на ЭМГ диафрагмы, которые укорачивались со 2-й по 30-ю мин экспозиции с наибольшей выраженностью на 5-й мин после микроинъекции (9,0%; $p < 0,05$). В эти же сроки на ЭМГ отмечалось укорочение межзалповых интервалов (9,6%; $p < 0,05$), что соответствовало изменениям фазы выдоха.

Объемные параметры паттерна дыхания отклонялись от исходных значений в более широком диапазоне и в более поздние сроки экспозиции. На 15-й мин действия АТФ отмечался наибольший достоверный прирост минутного объема дыхания (15,6% от первоначального уровня) и был обусловлен увеличением дыхательного объема (9,9%; $p < 0,05$). Изменения дыхательного объема оказали влияние и на объемную скорость инспираторного потока, максимальный прирост которой составил 19,3% ($p < 0,05$). Важно отметить, что изменения объемных параметров дыхания совпадали с увеличением максимальной амплитуды осцилляций в залпах инспираторной активности диафрагмы (10,9%; $p < 0,05$).

С учетом полученных результатов можно предполагать, что наблюдаемые эффекты стимуляции внешнего дыхания и ЭМГ диафрагмы обусловлены активацией P2-рецепторов РТЯ при воздействии на него АТФ. Однако локализация P2-рецепторов в РТЯ и молекулярные механизмы активации разных подклассов этих рецепторов в области РТЯ требуют дальнейшего детального изучения и уточнения.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕРОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ ВЕЩЕСТВ-ИНГИБИТОРОВ РЕЦЕПТОРА TGFBR1/ALK5 И МОНОАМИНОКСИДАЗЫ ИНДИВИДУАЛЬНО И В КОМБИНАЦИИ НА МЫШАХ СТАРШЕЙ ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЫ

И. Ю. Конев¹, И. Моргунов², О. Борисова², А. А. Москалев¹, М. В. Ведунова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

vankakonev2002@yandex.ru

²ООО «Финвижн»

Старение считается самым значимым фактором риска в развитии возраст-зависимых заболеваний. Старение можно рассматривать как процесс снижения функциональной работы иммунного ответа на фоне хронического низкоуровневого воспаления (возраст-ассоциированный воспалительный статус). Одной из ключевых причин развития возраст-зависимых изменений когнитивных функций является активация воспалительных реакций в ЦНС. Для предупреждения развития заболеваний, связанных со старением, давно известна группа препаратов, способных отсрочить их наступление и повысить сопротивляемость организма – геропротекторы.

Целью данной работы явилось изучение влияния препаратов-геропротекторов на поведенческие характеристики животных и возраст-зависимое нейровоспаление.

Для тестирования были взяты 27 самцов мышей, линии Balb/c, старшей возрастной группы (1,5 года). Предварительно животных разделили на 4 группы, отличающихся по типу вводимого препарата: контроль (DMSO) и три экспериментальные группы, одной из которых вводили ингибитор TGFBR1/ALK5, другой – ингибитор моноаминоксидазы (MAO), третьей – комбинацию этих препаратов. Схема эксперимента включала проведение месячного курса инъекций препаратов с параллельным проведением тестов на функциональное состояние нервной системы (неврологический статус, тест «Открытое поле»); после данного этапа все группы проходили поведенческие тесты («Водный лабиринт Морриса», «Условный рефлекс пассивного избегания») и тесты, перечисленные выше, в течение 4 месяцев для оценки динамики изменений уровня нарушений высшей нервной деятельности. После окончания эксперимента в ткани головного мозга оценивали экспрессию генов воспаления: IL1- α/β , IL6, IL10, IL22, TNF- α , методом ПЦР в реальном времени.

Показано, что применение выбранных препаратов в экспериментальных группах не оказало выраженного положительного влияния на двигательную активность, память и уровень тревожности. Кроме того, исходя из результатов относительного уровня экспрессии генов воспаления, отмечалось, что только ингибитор MAO приводит к снижению общего воспалительного профиля, т.к. наблюдалось снижение экспрессии провоспалительных цитокинов (IL1- β , IL6, IL22, TNF- α).

Таким образом, данные препараты-геропротекторы в рамках текущей схемы эксперимента не привели к комплексным улучшениям функционального состояния нервной системы, выраженных в характере поведения животных, однако результаты свидетельствуют о способности некоторых препаратов снижать нейровоспалительный эффект старения.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ-МАРКЕРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В МОНОСЛОЕ И КОЛЛАГЕНОВОМ ГИДРОГЕЛЕ

А. И. Кононова, Д. М. Елагина, Л. М. Сенча, Т. А. Здобнова, И. В. Балалаева
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kononovaa00@mail.ru

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – процесс, в ходе которого эпителиальные клетки приобретают свойства мезенхимальных. Вместе с обратным процессом мезенхимально-эпителиального перехода они играют значимую роль в опухолевой диссеминации и сопряжены с запуском каскада инвазии и метастазирования. Метастазирование опухолевых клеток ассоциировано с неблагоприятным прогнозом для онкобольных пациентов и является основной причиной высокой смертности среди них. Большую роль в регуляции процесса ЭМП играет внеклеточный матрикс (ВКМ), самым распространенным белком которого является коллаген.

Целью данной работы являлся сравнительный анализ уровня экспрессии генов-маркеров ЭМП в клетках аденокарциномы молочной железы человека при культивировании в коллагеновом гидрогеле и в монослойной культуре.

В работе использовали клетки аденокарциномы молочной железы человека MDA-MB-231. Для создания трехмерной модели роста опухолевых клеток был использован раствор коллагена I типа в 0,1% уксусной кислоте, полученный из сухожилий крыс. Клетки заключали в коллагеновые гидрогели в лунках 6-луночного планшета, последовательно смешивая раствор коллагена, питательную среду, клеточную суспензию и раствор для полимеризации геля. Готовые гидрогели инкубировали в течение 7 суток при 37°C и 5% CO₂. Определение уровня экспрессии генов интереса SNAIL, SLUG, DDR1, NOTCH1, MMP9 в монослойной культуре и коллагеновом гидрогеле производили с помощью метода ПЦР в реальном времени.

При переходе от монослойного культивирования к трехмерной модели опухолевого роста наблюдается формирование трехмерной сети клеточных тяжей, образующих контакты с коллагеновым матриксом, о чем свидетельствует зарегистрированная контракция гидрогелей с течением времени. Было показано, что в клетках, культивируемых в коллагеновых гидрогелях, по сравнению с монослойной культурой происходит увеличение уровня экспрессии генов SNAIL, DDR1. Статистически значимых отличий в уровнях экспрессии генов NOTCH1, MMP9, SLUG при культивировании клеток в монослое и коллагеновом гидрогеле не обнаружено. Полученные данные свидетельствуют о том, что заключение клеток в матрикс из коллагена I типа может оказывать влияние на их уровень экспрессии генов-маркеров ЭМП. Сведения об этом могут быть полезны при исследовании механизмов опухолевой прогрессии 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).

БАКТЕРИИ РОДА *RHODOCOCCLUS* КАК ЧАСТЬ МИКРОБИОМА ШЛАМ-ЛИГНИНОВЫХ ОТХОДОВ БАЙКАЛЬСКОГО ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОГО КОМБИНАТА

О. А. Копылова^{1,2}, Ю. Н. Кочаровская^{2,3}, Я. А. Делеган^{2,4}

¹Пушкинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 3;

oa.kopylova01@gmail.com

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 5

³Южный федеральный университет, 344006, Ростов-на-Дону, ул. Большая Садовая, 105/42

⁴ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, 143050, р.п. Большие Вяземы Московской обл., ул. Институт, 5

Бактерии рода *Rhodococcus* известны своей способностью к деградации широкого спектра линейных и циклических углеводов, а также устойчивостью к ряду тяжелых металлов, которые присутствуют в высоких концентрациях в шлам-лигнине. В работе представлены результаты анализа таксономического разнообразия и функциональной роли бактерий рода *Rhodococcus* в нативном сообществе шлам-лигнина, представляющего собой отходы Байкальского целлюлозно-бумажного комбината.

Исследование проводилось по материалам 4 проб, отобранных с территорий картнакопителей №2 и №4. Секвенирование выполнено с использованием платформы DNBSEQ G400. Биоинформатическая обработка проведена при помощи ПО VMTagger, Trimmomatic ver.0.38, Spades ver. 3.15.2, FragGeneScan и сервисов Kaiju и Genomape 2.4.0.

С помощью метагеномного профилирования выделен 31 флотип, относящийся как минимум к 19 видам бактерий рода *Rhodococcus*. В исследуемых сообществах они относятся к минорной группе и составляют 0,07-0,1% от общего таксономического спектра, однако играют свою роль в деструкции ряда ксенобиотиков почв. Наибольшее количество прочтений приходится на вид *Rhodococcus rhodnii*, что справедливо для всех четырех проб – доля этих прочтений среди других представителей рода составляет от 12 до 17% в каждом образце. Этот вид ранее известен способностью к росту на феноле в качестве единственного источника углерода. В пробах обнаружены гены данного вида, которые принимают участие в метаболизме таких поллютантов ароматической природы, как бифенил, катехол, соли и эфиры антрахиноновой кислоты. При этом несколько генов пути деградации бифенила представлены в сообществе только у данного микроорганизма.

Также в пробах обнаружены прочтения, соответствующие генам пути деструкции кумата, бензоата, ксилена и толуена и принадлежащие бактериям *Rhodococcus ruber*, *Rhodococcus aetherivorans*, *Rhodococcus opacus*, *Rhodococcus sp.* 008 и *Rhodococcus sp.* P52.

Проведен поиск прочтений, принадлежащих геномам бактериофагов, по результатам которого в каждом из образцов обнаружено от 16 до 18 флотипов бактериофагов рода *Rhodococcus*. Однако лишь из небольшой части прочтений при сборке были получены отдельные контиги, следовательно, большинство бактериофагов в пробах представлены в качестве профагов. Разнообразие бактериофагов косвенно указывает на жизнеспособное состояние бактерий *Rhodococcus* в образцах.

В ряду наиболее известных бактерий – деструкторов ксенобиотиков почв по доле прочтений в исследуемых образцах родококки уступают бактериям родов *Pseudomonas* (0.7% от всех бактериальных прочтений), *Variovorax* (0.3%), *Gordonia* (0.2%) и *Nocardia* (0.2%), однако примерно соответствуют доле *Acinetobacter* (0.09%), из чего можно заключить, что условия окружающей среды не являются благоприятными для рода *Rhodococcus*.

ОЦЕНКА ПОВЕДЕНЧЕСКИХ И НЕЙРОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ HIF-ГИДРОКСИЛАЗЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

М. В. Корокозова, П. Л. Стрелкова, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

mariakorokozova@yandex.ru

Гипоксия является ключевым звеном в патогенезе многих заболеваний, в том числе нейродегенеративных. Факторы, индуцируемые гипоксией (HIF) являются факторами транскрипции, которые контролируют экспрессию генов-мишеней, опосредующих адаптивные реакции клетки на гипоксию и ишемию. Множество мишеней, на которые нацелена система HIF, делают ее важной фармакологической мишенью. Одним из вариантов стабилизации комплекса HIF-1 является ингибирование HIF-пролилгидроксилаз (HIF-PHD), которые реализуют деградацию его α -субъединицы.

Целью данной работы явилось исследование влияния препарата Roxadustat (FG-4592, Sigma, Германия), ингибирующего HIF-пролилгидроксилазу, на двигательную активность, память и морфологические особенности коры головного мозга мышей при моделировании острой гипобарической гипоксии (ОГБГ).

Исследование проводили на 29 самцах мышей линии C57BL/6 в возрасте 8-12 недель, разделенных случайным образом на 4 группы: «Интактные», «Гипоксия», «Roxadustat 5 мг/кг», «Roxadustat 10 мг/кг». Моделировали подъем животных на высоту 10 000 м в гипобарической барокамере, где животные находились до второго агонального вдоха или максимально – 10 минут. Препарат вводили внутривентриально за 30 минут до моделирования ОГБГ в дозе 5 и 10 мг/кг соответственно. С целью оценки двигательной активности и воспроизведения памятного следа через 24 часа после моделирования ОГБГ проводили поведенческие тесты «Открытое поле» и «Условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ), после чего головной мозг забирали для гистологического исследования.

Показано, что ОГБГ приводит к гибели 25% животных. При этом в группе Roxadustat 10 мг/кг наблюдалась 100% выживаемость. Введение препарата способствовало повышению устойчивости к ОГБГ, увеличению времени жизни на высоте и времени, в течение которого животное способно сохранять позу в барокамере. Введение препарата Roxadustat в дозе 10 mg/kg предотвращало снижение двигательной активности, выявляемое у животных из группы «Гипоксия» в тесте «Открытое поле» в уменьшении общей дистанции, дистанции на периферии, средней скорости передвижения. В тесте «УРПИ» в группе «Гипоксия» наблюдалось нарушение рабочей памяти, вызванное ОГБГ, что проявлялось в уменьшении времени перехода в темный отсек. В группе Roxadustat 5mg/kg данный показатель не отличался от контрольной группы. Также было исследовано влияние ингибирования HIF-пролилгидроксилазы на морфологическое строение коры больших полушарий в постгипоксическом периоде. Таким образом, показано, что активация HIF путем введения препарата Roxadustat (FG-4592) повышает устойчивость животных к гипоксическому повреждению.

Работа выполнена в рамках проекта государственного задания, код проекта FSWR-2023-0032.

БИОИНДИКАЦИЯ ОПОЛЗНЕВЫХ СКЛОНОВ КОРЕННОГО БЕРЕГА Р. ВОЛГИ НА ОСНОВЕ ДЕНДРОХРОНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА *PINUS SYLVESTRIS* L.

Н. А. Котова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
kotova.natalia90@gmail.com

На склонах коренного берега р. Волги для фитоиндикации оползневых смещений и определения возраста оползневой активности проводились геоботанические описания, популяционный анализ и отбор кернов *Pinus sylvestris* L. Активность оползневых процессов определялась на основе популяционного, биоморфологического и эколого-ценотического анализов. Датирование оползневых смещений определялось по асимметрии годичных колец древесины, а сила сигнала – на основе эксцентриситета, который изменяется от 0 (min) до 1 (max).

В рамках исследования было изучено 18 деревьев на коренном склоне и элементах оползня на участке ООПТ «Зоостанция КГУ – массив Дачный» Верхнеуслонского района РТ. Выбирались в среднем 5 деревьев *Pinus sylvestris* L. на каждом элементе оползневого тела. Контрольная группа деревьев изучалась на коренном склоне, остальные непосредственно на оползневых элементах (бровка, надоползневой откос, ступени). Из каждого дерева с помощью бура было извлечено четыре керна верхний (а) и нижний (с) радиусы и два – перпендикулярно наклону ствола (b, d). Все образцы деревьев были отобраны в соответствии со стандартными процедурами.

Ширина годичных колец и датировка производились под бинокулярным микроскопом с использованием дендрохронологического устройства Lintab и программного обеспечения PAST4. Сигналы геоморфологических процессов идентифицировали по асимметрии заложения годичных колец *Pinus sylvestris*. Наиболее чувствительным показателем оползневых смещений является эксцентриситет годичного кольца деревьев. Эксцентриситет (e) в данном исследовании рассчитывали по методу Braam et al.

Первые признаки оползневой активности отмечены на коренном склоне в 1891г. $e=0.77$. Слабые подвижки отмечены в 1944-1946гг. $e = 0.26$ и 1984-1985гг. $e = 0.35$. Далее на коренном склоне в течение более 100 лет эксцентричность роста стволов *P. sylvestris* не отмечалась.

На бровке максимальный эксцентриситет отмечен в 1958 году 0.61, что обусловлено созданием Волжско-Камского водохранилища. Следующая подвижка грунта произошла в 1977 г., что отмечено по радиусу a-d – $e = 0.59$. Средний эксцентриситет годичных колец ствола $e > 0,35-0,44$ отмечался в 1891; 1910; 1916; 1919; 1945 гг.

В целом максимальный эксцентриситет отмечен на надоползневом откосе в 1985 году по радиусам a-d и c-d – 0.95 и 0.92.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ КЛАССИФИКАЦИИ ЭКГ

А. А. Краснов, В. В. Разин, Д. А. Карчков

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
akrsnv@ya.ru

Использование искусственного интеллекта для классификации ЭКГ является крайне важной и актуальной задачей, которая позволяет упростить работу врачам в данном направлении или вовсе производить анализ электрокардиограммы без использования людей.

Предлагается подход использования модификаций популярных нейронных сетей (рекуррентных и свёрточных) для классификации изображений совместно с собственными разработками для решения задачи диагностики по ЭКГ предсказания различных классов болезней. Обучение проводить по 2-м типам, где учитывается каждый класс болезни, а также рассматривается их конкретный набор. Данные разбивать на обучающую и тренировочную выборки по принадлежности к конкретному набору классов. Помимо классических метрик использовать и долю верно предсказанных наборов классов. Из обученных моделей глубокого обучения извлекаются признаки, и оптимальная комбинация из них подаётся на вход методам машинного обучения. После подбора гиперпараметров можно достигать наибольших показателей предсказательной способности машинных методов. Далее для всех обученных моделей глубокого и машинного подбираются оптимальные замены с определенными порогами, позволяющим повысить качество классификации. Далее все модели глубокого и машинного обучений, а также искусственные модели (такие, что всегда возвращают один конкретный набор классов в качестве предсказания) объединяются во всевозможные ансамбли и, оптимальный из них даёт наибольшие показатели метрики качества классификации.

В дальнейшем планируются улучшение предсказательной способности посредством рассмотрения новых архитектур, методов, ансамблей, совершенствование подбора замен с порогами, рассмотрение более сложных задач классификации, разработка объяснимого искусственного интеллекта, а также интеграция в ПАК «Кардиомаяк».

Результаты, полученные в численных экспериментах со свёрточными нейронными сетями, поддержаны Министерством науки и образования РФ, проект 0729-2021-013. Результаты, полученные в численных экспериментах с рекуррентными нейронными сетями, поддержаны Федеральной программой академического лидерства «Приоритет 2030».

СИНТЕЗ МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО 4-МЕТИЛУМБЕЛЛИФЕРОНА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ

П. В. Крикунова¹, А. Ю. Сапач², О. А. Синдеева², М. В. Нестерчук², Ю. В. Котелевцев², Г. Б. Сухоруков^{2,3}, Т. Н. Паллаева¹

¹НИЦ «Курчатовский институт» Курчатовский Комплекс «Кристаллография и Фотоника» (КККиФ), Москва, 119333, Ленинский проспект, 59;

krikunova.pv@gmail.com

²Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва, Большой бульвар, 30

³Лондонский университет королевы Марии, Лондон, Великобритания, E1 4NS

На сегодняшний день фиброз печени является серьезным заболеванием, для которого отсутствует специфическая терапия, поэтому актуальной задачей является поиск потенциальных лекарств. В недавних публикациях сообщалось, что 4-метилумбеллиферон (4-MU) ингибирует выработку гиалуроновой кислоты (ГК), которая является ключевым компонентом отложения внеклеточного матрикса при фиброзной печени. Кроме того, в последние годы появляется все больше работ, посвященных разработке методов таргетной доставки лекарств с помощью макрофагов. Таким образом, целью данной работы является разработка метода комбинированной таргетной терапии фиброза печени с использованием макрофагов, несущих микрокристаллы 4-MU (концепция «троянского коня»).

Коммерческий 4-MU формирует крупные кристаллы, которые не захватываются клетками и обладают низкой биодоступностью. Для решения этой проблемы нами была произведена перекристаллизация 4-MU под действием ультразвука на границе раздела фаз масло/вода. В качестве водной фазы использовался 5% бычий сывороточный альбумин (БСА), меченный флуоресцентной меткой Су-7 (для визуализации *in vivo*). В качестве масляной фазы было использовано соевое масло с добавлением насыщенного раствора 4-MU (100 мг/мл) в диметилсульфоксиде (ДМСО).

В результате синтеза удалось получить кристаллы 4-MU размером около 2 мкм, размер кристаллов определялся по данным оптической микроскопии, сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), а также методом динамического рассеяния света (ДРС). Сохранение молекулярной структуры при перекристаллизации подтверждается данными ЯМР спектроскопии. Исследование полученных кристаллов методом рентгенофазового анализа (РФА) показало существенное отличие дифракционной картины перекристаллизованного 4-MU в сравнении с коммерческим. Предположительно изменения связаны с различной укладкой молекул в структуре, что также влияет на внешний облик и габитус кристаллов.

Для исследования интернализации полученных кристаллов *in vitro*, их поверхность была модифицирована полимерной оболочкой состава (PAA-RITC/PSS)x2 методом послойной адсорбции полиэлектролитов. Успешное формирование оболочки было подтверждено с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) и методом ДРС.

Были изучены процессы захвата микрокристаллов 4-MU первичными макрофагами, влияние на жизнеспособность и подвижность клеток *in vitro* с помощью МТТ-теста, Scratch-теста, КЛСМ и проточной цитометрии. *In vivo* и *ex vivo* были продемонстрированы биораспределение и локализация макрофагов с микрокристаллами 4-MU с помощью системы визуализации IVIS SpectrumCT In Vivo. Анализ введенных клеток с микрокристаллами 4-MU *in vivo* и *ex vivo* показал их преимущественное накопление в печени.

Эксперименты с макрофагами были выполнены при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-75-10070).

ВВЕДЕНИЕ *ALTHAEA OFFICINALIS* L. В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Д. И. Крупченко, Л. З. Хуснетдинова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
krupchenkod00@mail.ru

Алтей лекарственный (*Althaea officinalis* L.) является ценным и активно используемым в современной медицине лекарственным растением, чьи фармакологические свойства обусловлены входящими в его состав полисахаридами и соединениями фенольной природы (изокверцетин, кемпферол, салициловая кислота и др.). Помимо отхаркивающего действия, экстракты алтея обладают антиоксидантным, противовоспалительным и бактерицидным эффектами. Современное развитие биотехнологии позволяет создать систему получения веществ вторичного метаболизма данного растения в виде суспензионной культуры клеток *in vitro*, интенсификация экстракции которых обеспечивается составом питательной среды.

В качестве вводимого в культуру *in vitro* экспланта использовали семена *A. officinalis*. В качестве стерилизующего агента применяли растворы гипохлорита натрия (2,5%) в течение 10 минут и перманганата калия (0,2%) в течение 2 минут. Стерилизованные семена помещали на агаризованную модифицированную питательную среду по прописи Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением фитогормонов цитокининовой природы (кинетин). Проростки *A. officinalis* черенковали и отсаживали на питательную среду МС с добавлением нафтилуксусной кислоты (НУК) и кинетина. Черешки листьев развитых таким образом растений фрагментировали и использовали для инициации каллусогенеза на среде МС с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и кинетина. Полученную каллусную культуру планируется перевести в суспензию с целью изучения накопления метаболитов фенольной природы в зависимости от используемых элиситоров.

В настоящее время определено, что семена *A. officinalis* при прорастании в культуре *in vitro* в значительной степени зависят от содержания осмолитов в питательной среде, что обуславливает наилучшее прорастание на среде с добавлением исключительно агара и дистиллированной воды без минеральных солей. Лучшее развитие надземной части микрочеренков *A. officinalis* наблюдается на среде МС с добавлением НУК и кинетина в концентрациях 0,1 мг/л и 1 мг/л соответственно. Эффективная инициация каллусогенеза из черешков листьев *A. officinalis* наблюдалась на среде МС с добавлением 2,4-Д и кинетина в концентрациях 0,5 мг/л и 0,25 мг/л соответственно в условиях темноты. Полученный таким образом рыхлый каллус может быть использован для получения суспензионной культуры клеток *A. officinalis*, накапливающих вещества вторичного метаболизма.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ

Д. П. Крылов^{1,2}, Д. С. Козлов^{1,2}, С. А. Родимова¹, А. М. Можеров¹, М. М. Карабут¹, Д. С. Кузнецова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
dmitr.krilow2013@yandex.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Наиболее частой причиной развития острой печеночной недостаточности является поступление в организм высоких доз гепатотоксических веществ, вызывающих токсическое повреждение печени или жировой гепатоз (стеатоз). При этом актуальной задачей остается поиск новых критериев развития острой или хронической патологии печени. Современные методы, включающие время-разрешенную флуоресцентную микроскопию FLIM, а также молекулярный анализ, расширяют возможности для оценки структурно-функционального состояния ткани печени на клеточном уровне. Цель работы – оценка структурно-функционального состояния печени при токсическом повреждении и жировом гепатозе 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 микротомы и помещали в стандартную культуральную среду. Для индукции токсического повреждения были выбраны три токсина: тетрахлорметан (CCl₄), этанол и ацетаминофен (парацетамол). Для индукции стеатоза использовали пальмитиновую и олеиновую жирные кислоты. Инкубацию с токсинами и жирными кислотами проводили в течение 3 часов. Далее образцы помещали в стандартную среду, а мониторинг проводили на 24 ч и 48 ч после культивирования. Индукцию патологий подтверждали стандартным гистологическим методом. Метаболический статус гепатоцитов в норме и при патологии анализировали методом FLIM на основе данных о временах жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАДН (t₁ и t₂ (пс), соответственно) и их вкладов (a₁ и a₂ (%), соответственно). Оценку уровня экспрессии генов, ассоциированных с развитием индуцируемых патологий, проводили методом ПЦР в режиме реального времени.

С применением FLIM показано, что характерной особенностью при воздействии токсинов является появление гетерогенности клеток по их метаболическому статусу, что указывает на наличие метаболически активных и некротических клеток. Во всех моделях с токсинами происходило резкое увеличение отношения [НАДН]/[НАД⁺] за счет его окисления алкогольдегидрогеназой. Уменьшение вклада связанной формы НАДН указывает на снижение интенсивности окислительного фосфорилирования в гепатоцитах, что является одной из причин их повреждения. При индукции стеатоза отмечается резкое снижение значений вклада a₂ на 48 ч, что соотносится с данными морфологического анализа, где максимум накопления липидных капель наблюдался на 48 ч. С использованием метода ПЦР в реальном времени, мы обнаружили характерные изменения в экспрессии генов, ассоциированных с моделируемыми патологиями.

Таким образом, используемый в данной работе подход на основе методов FLIM и молекулярного анализа эффективен для мониторинга состояния ткани печени при токсическом повреждении.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда №23-15-00421.

ОЦЕНКА ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ВОДИТЕЛЕЙ АВТОТРАНСПОРТА

А. Р. Ксенафонтва^{1,2}, Л. В. Полякова², В. В. Чугунова^{1,2}, Е. С. Жукова², М. А. Позднякова²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Anyaksenafontova@yandex.ru

²ФБУН «ННИИГП» Роспотребнадзора, 603005, Нижний Новгород, ул. Семашко, 20

Профессия водителя – самая массовая в России. Данные работники ежедневно подвергаются воздействию вредных производственных факторов (шум, вибрация, высокая концентрация ксенобиотиков, стресс), также среди контингента высока доля курящих. Эти факторы ведут к «изнашиванию» организма, развитию профессионально обусловленных заболеваний, которые опосредуются дисбалансом в процессах свободнорадикального окисления. В связи с этим, регистрация степени окислительной модификации белков (ОМБ) в крови может быть перспективна при оценке состояния здоровья работающих.

Цель работы: оценка возрастных изменений в уровне окислительной модификации белков плазмы крови профессиональных водителей автотранспорта с учетом табакокурения.

В исследовании приняли участие 162 водителя (мужчин) возраста от 22 до 64 лет, проходящих медицинский осмотр на базе ФБУН «ННИИГП» Роспотребнадзора и допущенных по состоянию здоровья к трудовой деятельности. Среди обследуемых доля курящих составила 57%. В плазме крови водителей оценивали уровень спонтанного и индуцированного окисления белков по реакции взаимодействия карбонильных групп с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ). Оптическая плотность альдегид-ДНФГ регистрировалась при длине волны $\lambda = 270$ нм, кетон-ДНФГ – при длине волны $\lambda = 363$ нм. Содержание общего белка в плазме крови определяли биуретовым методом с помощью коммерческого набора. Резервно-адаптационный потенциал окислительной способности белков оценивался как разница между значениями индуцированного и спонтанного окисления.

При регистрации спонтанного уровня ОМБ плазмы крови установлено, что данный показатель не зависит от возраста и поддерживается организмом водителей на постоянном уровне, как у некурящих, так и курящих ($0,12 \pm 0,04$ и $0,17 \pm 0,06$ ед. опт. пл./1 мг белка для альдегид- и кетон-ДНФГ соответственно). При оценке резервного потенциала ОМБ плазмы крови отмечается незначительное снижение параметра с увеличением возраста по показателю альдегид-ДНФГ ($r = -0,182$, $R = 3,3\%$, $p = 0,015$, коэффициент Спирмена).

Таким образом, установлено, что степень окислительной модификации белков плазмы крови у профессиональных водителей является достаточно константным показателем, слабозависимым от физиологических возрастных изменений в организме. Можно предположить, что оцениваемый показатель будет информативным при развитии патологий. Однако для подтверждения тезиса требуется продолжение исследований в этой области.

ВЗАИМНОЕ ВЛИЯНИЕ 5-HT₄ РЕЦЕПТОРОВ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХНС***А. М. Кубарева, Е. А. Карпенко, А. Д. Перенков, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина****ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nastasya.kubareva@mail.ru*

Длительный стресс является одним из самых значимых факторов, провоцирующим развитие депрессивного расстройства. Существует много данных о взаимосвязи депрессивных расстройств и нарушений функционирования серотониновой системы. При депрессии отмечены изменения экспрессии серотониновых рецепторов, угнетение роста серотонинергических нейронов вплоть до их дегенерации, особенно в гиппокампе и коре головного мозга. Последние исследования указывают на благоприятное воздействие активации ранее мало изученных серотониновых рецепторов 4 и 7 типов на память, поведение и настроение, а также способность к обучению. Известно, что серотонинергические нейроны способны к экспрессии нейротрофического фактора BDNF, который способствует нейрональному росту и оказывает нейропротекторное действие при депрессивноподобном состоянии у грызунов. Целью нашей работы явилось исследование влияния стимуляции серотониновых рецепторов 4-го типа агонистом *VimU8* и экзогенного введения BDNF на экспрессию 5-HT_{4R} и 5-HT_{7R} и формирование ангедонистического поведения при индуцированном хроническим непредсказуемым стрессом (ХНС) депрессивноподобном состоянии у мышей.

Объектом исследования явились самцы мышей линии C57BL/6, разделенные на следующие группы: «Контроль» (n = 10), «ХНС» (n = 10, ХНС в течении 21 дня), «ХНС+VIMU8» (n = 10, ХНС в течении 21 дня, с 15 по 21 день внутрибрюшинное введение *VimU8* 5 мг/кг), «ХНС+BDNF» (n = 10, ХНС в течении 21 дня, с 15 по 21 день интраназальное введение BDNF 0,4 мг/кг).

Оценка ангедонистического поведения с помощью теста предпочтения сахарозы показала, что в группе «ХНС» коэффициент потребления сахарозы снизился с $89,48 \pm 1,98\%$ до $82,44 \pm 2,86\%$. Применение BDNF сохраняло нормальный уровень предпочтения сахарозы ($87,6 \pm 2,13\%$). С помощью ПЦР в реальном времени было выявлено, что моделирование ХНС приводит к достоверному снижению экспрессии мРНК 5-HT_{4R} и 5-HT_{7R}, а также BDNF в гиппокампе и коре больших полушарий головного мозга. Наиболее выраженное снижение уровня экспрессии серотониновых рецепторов отмечено в коре больших полушарий (мРНК 5-HT_{4R} в 3 раза, а 5-HT_{7R} в 2,04 раза). Активация 5-HT_{4R} агонистом *VimU8* при моделировании стресса достоверно повышала экспрессию 5-HT_{4R} и 5-HT_{7R}, а также BDNF относительно контрольной группы. Интраназальное применение BDNF сохраняло уровень экспрессии мРНК BDNF в коре больших полушарий, а также поддерживало экспрессию 5-HT_{4R} в гиппокампе. Таким образом, наше исследование расширяет имеющиеся представления о взаимосвязи серотониновой системы головного мозга и нейротрофического фактора BDNF.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 22-15-00178.

КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ФАКТОРА АССОЦИИ РИБОСОМЫ А (RbFA) ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА (*S. AUREUS* RN4220)

А. В. Куватова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
kuvatova.eve@gmail.com

Staphylococcus aureus – вид грамположительных бактерий, который известен своей способностью становиться устойчивым к широкому спектру антибиотиков. Ускоренный рост лекарственно-устойчивых микроорганизмов представляет серьезную проблему во всем мире. Основными мишенями для антибиотиков у стафилококков являются: клеточная оболочка, нуклеиновые кислоты и рибосома. Многие антибиотики вмешиваются в биосинтез белка, связываясь с рибосомой или ингибируя цитоплазматические белки, которые участвуют в процессе трансляции. Сайты связывания антибиотиков, которые нацелены на рибосому, группируются вместе в двух основных сайтах: один в 50S-субъединице вокруг пептидилтрансферазного центра, а другой в 30S-субъединице, где связывается поступающая аминоксил-тРНК. Помимо этого, особый интерес представляют белки – факторы созревания 30S субъединицы рибосомы.

В ходе работы было проведено клонирование гена фактора ассоциации рибосомы А (RbFA), который способствует правильному сворачиванию функционального ядра рРНК, необходим для созревания 30S субъединицы и инициации трансляции.

Была разработана пара праймеров, расположенных по обе стороны от гена *gbfA*. Из хромосомной ДНК *S. aureus* RN4220 методом ПЦР с использованием полученных праймеров был амплифицирован ген *gbfA*. Далее амплифицированный участок был обработан по двум сайтам рестрикции (*SaI* и *Bsp19I*) и впоследствии было проведено лигирование с вектором рЕТ-28а. Выбор в пользу вектора рЕТ-28а был сделан в связи с наличием в нем T7 промотора, последовательности поли-гистидина на N- и C-конце и тромбиновой протеазы для экспрессии и очищения полученного рекомбинантного белка, также данный вектор имеет селективный маркер устойчивости к канамицину. Трансформировали полученную конструкцию в клетки *E. coli* DH5α и далее высевали на агаризованную среду LB с канамицином для селекции. Убедились в правильности клонирования при помощи секвенирования результирующего конструкта. Затем плазида была выделена, очищена и трансформирована в штамм *E. coli* BL21 для экспрессии гена *gbfA*.

Прежде в результате экспрессии данного гена было обнаружено, что белок RbFA имеет несколько изоформ, различающихся по длине N-концевого домена (~ 15 кДа и ~ 13 кДа). Внутри структурного гена нами был обнаружен и идентифицирован дополнительный сайт связывания с рибосомой (RBS), и методом сайт-направленного мутагенеза изменена его последовательность. Полученную конструкцию проверили методом секвенирования, а также провели экспрессию мутированного гена *gbfA*, которая показала единственную белковую полосу.

ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ СИСТЕМЫ «ФАГ-БАКТЕРИЯ» НА ПРИМЕРЕ ИНФЕКЦИИ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* STX-КОНВЕРТИРУЮЩИМ БАКТЕРИОФАГОМ Ф24В

А. С. Кузнецов^{1,2}, Е. Е. Куликов^{1,2}, А. В. Моисеенко³, А. К. Голомидова¹, А. Д. Ефимов¹, О. Д. Москаленко², С. А. Датская³, А. В. Летаров^{1,3}

¹Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, 117312, Москва, просп. 60-летия Октября, 7;

²Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1А

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

Вирусы бактерий, или бактериофаги, представляют собой перспективные объекты для исследований в области молекулярной биологии, биотехнологии и медицины. Взаимоотношения между вирусами бактерий и их хозяевами всегда имеют комплексный характер. Поскольку многие бактериофаги (фаги) способны заражать разные штаммы того или иного вида бактерий, наиболее прогрессивным и корректным подходом к исследованию бактериофагов является их рассмотрение в рамках пары «фаг-бактерия». Каждая пара «фаг-бактерия», в свою очередь, представляется сложной системой, включающей множество взаимовлияющих факторов, таких как параметры внешней среды, конформационные состояния вирусных и бактериальных структур, внутриклеточные сигналы, уровни экспрессии различных генов и т. п. Среди ряда умеренных бактериофагов, кодирующих гены токсинов и усиливающих патогенность штаммов-хозяев вследствие лизогенной конверсии, встречаются Stx-конвертирующие фаги, которые способны превращать бактерии *Escherichia coli* в продуцентов шигаподобного токсина (Shiga toxigenic *E. coli*, STEC). STEC могут вызывать опасные токсикоинфекции у людей, что делает эту группу бактерий клинически значимой.

В рамках данной работы проведено комплексное исследование Stx-конвертирующего бактериофага Ф24В с использованием различных вариантов бактерий *E. coli* и лабораторного штамма данного вируса, потерявшего способность к токсин-конверсии.

Показано, что в большинстве случаев наличие полноразмерного О-антигена на поверхности бактериальных клеток подавляло адсорбцию данного бактериофага, препятствуя лизогенизации или бляшкообразованию. Однако некоторые отдельные лизогены, полученные на основе О-антиген-продуцирующих штаммов, содержали О-антиген в том или ином виде. Также изучена зависимость эффективности лизогенизации *E. coli* штамма MG1655 от множественности инокуляции в интервале от 5 до 20.

Для пары «Ф24В – *E. coli* MG1655» получена кривая адсорбции. Исследование возможного взаимодействия потенциальных боковых рецептор-распознающих белков grb1 этого фага с белковым рецептором BamA на клеточной поверхности провели на модельном объекте – фаге λ_2В8. Для дальнейших экспериментов с использованием вирусной системы гомологической рекомбинации на основе λ_2В8 получен рекомбинантный бактериофаг, содержащий осевую фибриллу фага λ.

Благодаря оптимизированной методике концентрирования и очистки фагов при помощи серии ультрацентрифугирований и современным методам анализа структуры на основе крио-ЭМ нами была всесторонне описана морфология частицы фага Ф24В и получены трехмерные реконструкции вирионов с разрешением 4.0-6.0 Å.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СТОЧНЫХ ВОД БОЛЬНИЦ ВО ВЬЕТНАМЕ

А. Е. Кузнецова¹, Л. В. Сужаева², Duong Thi Hong Tham³, А. М. Анциферова¹, С. А. Егорова²

¹Санкт-Петербургский государственный технологический институт, 190013, Санкт-Петербург, просп. Московский, 24-26/49А;
alisasmith01122002@mail.ru

²ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14

³Институт Пастера, Нячанг, Вьетнам, ул. Чан Фу, 8-10

Введение. Использование клинически значимых антибиотиков в сельском хозяйстве, ветеринарии и медицине способствует глобальному эпидемическому росту устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП). Резистентные микроорганизмы и их гены устойчивости попадают к человеку, в почву, воздух, воду различными путями. Глобальные стратегии смягчения таких последствий включают выявление сред высокого риска, способствующих развитию и распространению устойчивости. Больничные сточные воды являются резервуаром устойчивых к антимикробным препаратам микроорганизмов и могут способствовать межвидовому и внутривидовому переносу детерминант устойчивости.

Цель. Определить чувствительность к антимикробным препаратам у микроорганизмов, выделенных из сточных вод больниц в южных провинциях Вьетнама.

Материалы и методы. Исследовано 45 штаммов микроорганизмов, выделенных из проб сточных вод больниц, расположенных в южных провинциях Вьетнама. Микроорганизмы идентифицированы с применением технологии времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией на масс-спектрометре Autof MS1000 (Китай). Чувствительность штаммов к 8 классам АМП определена диско-диффузионным методом. Интерпретация категорий чувствительности выполнена согласно пограничных значений EUCAST, версия 13.0.

Результаты. В исследуемых пробах было идентифицировано 9 видов микроорганизмов, относящихся к 4 родам (*Escherichia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*) семейства *Enterobacteriaceae* и роду *Aeromonas* семейства *Aeromonadaceae*.

Среди микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* резистентностью к одному-двум классам АМП обладали 27,3% штаммов, полирезистентными (устойчивыми к 3 и более классам АМП) были 72,7% изолятов. Множественная резистентность чаще была свойственна представителям родов *Escherichia* (84,6%) и *Klebsiella* (85,7%). К ампициллину были устойчивы 97,0% штаммов, к цефтазидиму – 84,8%, ципрофлоксацину – 36,4%, гентамицину – 48,5%, триметоприм/сульфаметоксазолу – 57,6%, хлорамфениколу – 39,4%, тетрациклину – 51,5%. Большинство штаммов сохраняли чувствительность к меропенему (93,9%).

Среди бактерий семейства *Aeromonadaceae* полирезистентными были 75,0% штаммов. К ципрофлоксацину были устойчивы 75,0%, триметоприм/сульфаметоксазолу – 83,3%, к цефтазидиму – 100% изолятов рода *Aeromonas*.

Выводы. Микроорганизмы, выделенные из проб сточных вод больниц, расположенных в южных провинциях Вьетнама более чем в 70% случаев обладали множественной лекарственной устойчивостью к клинически значимым антимикробным препаратам. Для снижения риска распространения устойчивых к АМП микроорганизмов в окружающей среде необходимы эффективные меры по обработке больничных сточных вод.

ИММУННЫЙ ОКСИСТЕРИН КАК ПРОТЕКТОР ДИАФРАГМАЛЬНОЙ МЫШЦЫ МЫШИ ПРИ МОДУЛЯЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Е. А. Кузнецова^{1, 2}, Г. Ф. Закирьянова^{2, 3}, А. М. Петров^{2, 3}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *eva.korshak@mail.ru*

²Казанский институт биохимии и биофизики РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31

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

В основе развития множества патологий скелетных мышц лежит нарушение работы митохондрий. В свою очередь коррекция митохондриальных aberrаций способствует восстановлению и регенерации мышечной ткани. Регенерация скелетной мышцы сопровождается активацией макрофагов, которые являются источниками многих биоактивных молекул, в том числе 25-гидроксихолестерина (25-ГХ). Этот ГХ обладает высокой мембранопроникающей способностью и оказывает иммуномодулирующее действие.

Ранее нами была показана способность иммунного оксистерина восстанавливать нарушенную нервно-мышечную передачу в модели бокового амиотрофического склероза. В данной работе описано протективное и антиоксидантное действие 25-ГХ при модуляции митохондриальной дисфункции в диафрагмальной мышце мыши.

Сам по себе 25-ГХ способен повышать концентрацию внутриклеточного кальция. Этот эффект не наблюдался при блокаде мембранных эстрогеновых рецепторов альфа (ЭР) и инозитолтрифосфатных (ИТФ)-рецепторов саркоплазматического ретикулума (СПР).

Антимицин А – блокатор III комплекса электрон-транспортной цепи митохондрий – приводил к повышенному синтезу активных форм кислорода, накоплению митохондриального кальция, деполяризации митохондрий и индукции перекисного окисления липидов плазмалеммы. 25-ГХ в субмикромольной концентрации подавлял или инвертировал нарушения, вызванные этим митохондриальным ядом.

Хелатирование внутриклеточного кальция, блокада ЭР и ИТФ-рецепторов подавляли антиоксидантное действие 25-ГХ в условиях митохондриальной дисфункции.

Вероятно, иммунный оксистерин способен нивелировать негативные последствия, вызванные митохондриальной дисфункцией скелетных мышц, и запускать протективную сигнализацию, зависящую от эстрогеновых рецепторов. Возможный механизм такого действия – модуляция кальциевой сигнализации в системе СПР – митохондрии. Способность 25-ГХ препятствовать окислительному стрессу, спровоцированному митохондриальными нарушениями, может стать предпосылкой к разработке эффективных методов лечения мышечных патологий, ассоциированных с окислительным стрессом.

Грант РФФИ № 23-75-10022.

ДЕТЕКТИРОВАНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ ОПУХОЛЕВОЙ ДНК С ЦЕЛЬЮ ПОИСКА МИНИМАЛЬНОЙ РЕЗИДУАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ

Г. М. Кузьмина¹, Е. А. Колесникова², В. А. Новикова³, С. А. Климин²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
glaku@yandex.ru

²ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», 603126,
Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1

³Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл.
Минина и Пожарского, 10/1

Минимальная остаточная болезнь (МОБ) – название, данное небольшому количеству раковых клеток, которые остаются в организме человека во время лечения или после лечения, когда пациент находится в состоянии ремиссии. Выявление и мониторинг МОБ широко используется у пациентов с гемобластомами, но остается сложным у пациентов с солидными опухолями из-за трудностей выявления низких концентраций циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) или факторов, выделяемых раковыми клетками в кровоток. ЦоДНК представляет собой бесклеточные ДНК-фрагменты опухолевого происхождения в плазме, состоящие из коротких фрагментов размером от 130 до 150 пар оснований, высвобождаемых из раковых клеток посредством некроза и апоптоза. Циркулирующую ДНК можно обнаружить даже у здорового человека, что связано с естественным разрушением клеток крови. Но у онкобольных концентрация циркулирующей ДНК значительно увеличивается за счет цоДНК. Обсервационные исследования показывают, что период полураспада цоДНК в кровотоке составляет примерно 2 часа, предполагая, что уровень цоДНК обеспечивает моментальный снимок динамики опухоли в режиме реального времени. ЦоДНК выводится из кровотока посредством нуклеазной активности, деградации макрофагами в печени и селезенке и почечной экскреции с мочой. Также отмечено, что фрагменты ДНК, полученные из злокачественных клеток, имеют более короткую длину фрагмента, чем фрагменты ДНК, полученные из умирающих нормальных клеток, что позволяет улучшить обнаружение цоДНК путем отбора фрагментов между 90 и 150 парами нуклеотидов.

В ходе работы были исследованы образцы плазмы пациентов с KRAS, NRAS и BRAF-мутированным. Методом ПЦР у 15 пациентов выявлена мутация гена KRAS, у 2 пациентов выявлена мутация гена NRAS, у 3 пациентов – мутация гена BRAF. За период наблюдения до и после операции у 20 пациентов был осуществлен забор крови, через 3 месяца – у 13, через 6 месяцев – у 5 пациентов. Анализ соматических мутаций в генах KRAS и BRAF происходил использованием наборов ddPCR BRAF V600 Screening Kit, PrimePCR ddPCR Mutation Detection Assay Kit KRAS G13D. Регистрация выделенной ДНК происходила с помощью капельно-цифровой системы ПЦР QX200.

Из исследованных 9 образцов, проанализированных на наличие мутации BRAF, в 4 из них была обнаружена мутантная аллель гена BRAF V600E (44,4%). Из 8 образцов, проанализированных на наличие мутации KRAS, в 5 из них обнаружена мутантная аллель гена KRAS G13D (62,5%).

СОЗДАНИЕ ШТАММА *P. PUTIDA* ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВАХ

Г. А. Кунгуров^{1, 2}, А. Ю. Суханов², Н. В. Трахтман², Ш. З. Валидов²

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
gkungurov567@gmail.com

²ФИЦ КазНЦ РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31

Штамм *P. putida* PCL1760 был выделен из ризосферы авокадо и относится к почвенным псевдомонадам. Он является агентом биологического контроля, способным бороться с корневой гнилью томатов, вызываемой *Fusarium oxysporum f. sp. radicum-lycopersici* Forl. Эта способность обусловлена механизмом борьбы за питательные вещества и ниши (CNN – competition for nutrients and niches). Кроме того, этот штамм не относится к патогенам, что делает его привлекательным для использования в биотехнологических процессах. Одним из требований для таких штаммов является удовлетворительный рост в ферментерах с наименьшим образованием биопленок и отсутствие подвижности клеток.

В этой работе мы получили штамм с удаленными генами, отвечающими за подвижность и формирование биопленок. В ходе работы мы провели секвенирование и анализ генома указанного штамма. Было показано, что размер его генома (6002785 п.н., GenBank CP099727) был меньше по сравнению с ближайшим родственным штаммом *P. putida* KT2440 (6181873 п.н., GenBank AE015451). В ходе анализа последовательности ДНК были выявлены гены, отвечающие за образование альгинатных биопленок (*algA*) и жгутиков (*flhA*). Для делеции генов нами были созданы плазмиды, содержащие фланкирующие последовательности длиной 1000 п.н в составе вектора pK18-mobSacB, не способного к репликации в клетках *P. putida*. Эти плазмиды были использованы в дальнейшем для гомологичной рекомбинации и создания делеционных вариантов.

Для полученного мутанта LN6160 была измерена динамика роста и показано, что делеционный мутант обладает большей скоростью роста по сравнению со штаммом дикого типа. Кроме того, были проведены тесты на образования биопленок и подвижность. Было продемонстрировано, что делеционный вариант *P. putida* LN6160 образовывал биопленку в 5 раз меньше, чем исходный штамм и был практически неподвижен в 0,3% агаре. Эти свойства генно-редактированного штамма позволяют эффективно использовать его в качестве платформы для решения биотехнологических задач.

Работа выполнена в рамках выполнения проекта «Разработка рекомбинантного штамма на основе Pseudomonas putida PCL1760 для биокаталитической трансформации ароматических производных лигнина», финансируемого Министерством Науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-254 от 17.06.2022 г.).

АКТИВНОСТЬ ТРАНСАМИНАЗ И ФЕРМЕНТОВ ХОЛЕСТАЗА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ С ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ ЭТАНОЛОМ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЕМ ПЛАЗМЫ ИСКРОВОГО РАЗРЯДА

А. А. Курпянова, С. В. Трофимова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
annaqip31@gmail.com

Злоупотребление алкоголем отрицательно сказывается на структурном и функциональном состоянии большинства систем организма в результате токсического действия этанола и его метаболитов. Одним из первичных признаков метаболических и структурных нарушений при интоксикации этанолом является развитие алкогольной энзимопатии. Разработка новых безопасных, неинвазивных и эффективных методов детоксикации является актуальным. Особый интерес представляет излучение газоразрядной плазмы за счет своего биорегуляторного воздействия и стимуляции микроциркуляции, антиоксидантных системы и иммуномодулирующего эффекта. В связи с этим целью работы было исследовать ферментный профиль животных с острой алкогольной интоксикацией после воздействия излучением газоразрядной плазмы.

Опыты были проведены на 24 белых беспородных крысах, которые были случайно разделены на 4 группы по 6 животных: 1 – контрольные крысы «К»; 2 – контрольные крысы, обработанные излучением плазмы (ИП) «К+ИП»; 3 – крысы с острой алкогольной интоксикацией «ОАИ»; 4 – крысы с ОАИ, обработанные ИП «ОАИ+ИП». ОАИ моделировали однократным внутрибрюшинным введением 33% раствора этанола в дозе ЛД₅₀. Крысам групп «К» и «К+ИП» однократно внутрибрюшинно вводили физиологический раствор. Воздействие осуществляли на область брюшной стенки крысы в течение 10 минут излучением плазмы со следующими характеристиками: 100 мкс – длительность одного импульса, 11 кВ – напряжение, 5.9×10^{-2} Дж – энергия в одном импульсе, 10 Гц – частота импульсов, оптический диапазон 200-800 нм. Через 24 часа у гепаринизированных животных получали кровь. Оценивали активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) с использованием тест-наборов «ДИАКОН ДДС». Измерения производились на спектрофотометре СФ-2000 (Россия, ОКБ Спектр) и на биохимическом анализаторе cs-t240 (Китай, Dirui Industrial Co., Ltd.).

Было установлено, что воздействие излучением плазмы в течение 10 минут не вызывает повреждения тканей и органов интактных животных, о чем свидетельствует отсутствие изменений ферментного профиля животных группы «К+ИП». Моделирование ОАИ приводило к развитию алкогольной энзимопатии у животных группы «ОАИ», зарегистрированной по увеличению активности АЛТ и АСТ в 2 раза, ЛДГ в 1,3 раза, ГГТ в 1,5 раза и ЩФ в 1,2 раза по сравнению с группой «К». Обработка излучением плазмы в токсикогенной фазе алкогольного отравления приводила к уменьшению гепатотоксического и кардиотоксического эффектов этанола, активность изученных ферментов в крови животных группы «ОАИ+ИП» статистически значимо не отличалась от таковых в крови интактных животных группы «К».

ИНДУКЦИЯ ПОЛИРЕАКТИВНОСТИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРЕПАРАТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ КИСЛЫХ УСЛОВИЙ СРЕДЫ

Д. А. Курасова, Е. А. Разоренова, Е. Н. Горшкова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
darya.kurasova@inbox.ru

Иммуноглобулины играют важную роль в защите нашего организма от патогенов, которые они распознают, связывают и способствуют их уничтожению. За последнее время достигнут большой прогресс в их использовании в качестве терапевтических препаратов для лечения и профилактики различных заболеваний от раковых до инфекционных. Однако до сих пор активно изучается возможность улучшения терапии с использованием антител. Одним из способов повышения эффективности терапевтических препаратов на основе иммуноглобулинов может стать приобретение иммуноглобулинами способности связывать несколько структурно не родственных антигенов, т.е. индукция их полиреактивных свойств. Целью нашей работы явилось исследование возможности приобретения полиреактивных свойств иммуноглобулинами классов G, A и M в составе комплексного иммуноглобулинового 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 были использованы рекомбинантные антигены VP3 норовируса и VP1 энтеровируса (предоставлен НИИЭМ имени академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия) и аутоантигены ЛПС и ФНО.

Иммуноглобулины G, A и M в составе КИП модифицировали под действием кислых условий среды. Для этого использовали 0,25 М глицин-HCl буфер или глициновый буфер (0,25 М глицин) со значениями pH 2,6 и 4,0. Компоненты добавляли в соотношении 9:1 и инкубировали в течение 10 мин. Реактивность иммуноглобулинов оценивали с помощью иммуноферментного анализа.

В ходе работы было установлено, что иммуноглобулины классов M уменьшают аффинность в отношении антигенов VP3 норовируса и VP1 энтеровируса после обработки КИП буферами с кислым значением pH, в тоже время иммуноглобулины классов A и G не изменяют свою аффинность в отношении вирусных антигенов. Было показано, что после модификации иммуноглобулины классов A, G и M уменьшают свою аффинность в отношении аутоантигена ЛПС, а в отношении аутоантигена ФНО иммуноглобулины классов G и M также уменьшают свою аффинность, а иммуноглобулины класса A никак ее не меняют.

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 вирусных антигенов и аутоантигенов.

СПОСОБНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ С ПОРАЖЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА (*SOLANUM LYCOPERSICUM L.*), ВЫЗЫВАТЬ ПАТОЛОГИИ ПЛОДОВ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Ю. А. Курочкина, А. М. Петерсон

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83;
julkurochkina@yandex.ru

Томаты широко культивируются на территории России. Однако их поражение фитопатогенными грибами приводит к существенным потерям урожая как в период вегетации, так и при хранении. Грибы, вызывающие порчу плодов, попадают на них, преимущественно, с самого растения. Целью работы было выявление способности грибов, изолированных с растений томатов, имеющих какие-либо патологии, вызывать порчу плодов в условиях *in vitro*.

Были использованы грибы *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Apophysomyces jiangsuensis*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cladosporium lycopersicum*, *Rhizopus sp.*, *Penicillium lanosum*, изолированные с растений томатов в Саратовской области. Для инфицирования брали плоды томатов сорта Валентина в стадии технической спелости. 4-х суточные культуры грибов наносили на поверхность плодов с неповреждённым эпидермисом и на поверхность плодов с надрезом длиной 1 см. Чашки Петри с фрагментами инфицированных плодов помещали во влажные камеры и выдерживали при температуре +25-28°C. Учет результатов проводили на 3, 7 и 11 сутки. Для оценки степени поражения была использована 3-х балльная шкала.

На инфицированных плодах уже через 3 суток наблюдался рост грибов. Патологии были отмечены лишь на плодах с надрезом, что показывает защитную функцию покровных тканей плодов. Рост грибов усиливался к 7 суткам, а к 11 суткам большая часть образцов была полностью покрыта грибами.

Все исследуемые штаммы фитопатогенных микроорганизмов оказались способны вызывать патологии плодов томатов. К концу эксперимента 42% грибов давали поражение в 2 балла, 50% – в 3 балла. Большая степень поражения наблюдалась на поврежденных образцах, что объясняется проникновением фитопатогенов внутрь плода и быстрым развитием за счет питательных веществ.

Наиболее сильные поражения вызывали фитопатогенные грибы *Alternaria alternata* 5, *Alternaria solani* 102, *Apophysomyces jiangsuensis* 8. Грибы рода *Alternaria* являются возбудителями альтернариоза различных растений, а *Apophysomyces jiangsuensis* вызывает гниение растительных тканей. Наименьшую степень поражения плодов вызывали *Cladosporium lycopersicum* 76, *Rhizopus sp.* 34. На контроле практически не наблюдался рост грибов, что подтверждает способность именно исследуемых штаммов грибов вызывать патологии плодов томатов. Следовательно, контроль за микокомплексом вегетативных частей растений томатов позволит снизить риск порчи готовой продукции при транспортировке и хранении.

ВЛИЯНИЕ ДЕЛЕЦИИ ГЕНА ЭЛОНГАЦИОННОГО ФАКТОРА P (EF-P) НА ФУНКЦИИ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА

А. Д. Кутьменева, Ш. З. Валидов

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

Одним из самых опасных бактериальных патогенов, имеющих высокую скорость приобретения антибиотикорезистентности, является грамположительная бактерия *Staphylococcus aureus*. Золотистый стафилококк вызывает набор серьезных заболеваний и особо опасен как возбудитель внутрибольничных инфекций. *S. aureus* секретирует набор экзопротеинов, в том числе протеаз, которые позволяют ему избегать атаки иммунной системы организма-хозяина. Для успешной борьбы с этим патогеном необходимо подробное изучение аппарата белкового синтеза бактерии – важной мишени антибактериальных препаратов. Белок EF-P – фактор элонгации, который инициирует образование первой пептидной связи и облегчает синтез «жестких» полипролиновых мотивов, также необходим для эффективного синтеза белков, важных для жизнедеятельности золотистого стафилококка.

Для выяснения роли белка EF-P в секреторной функции у штамма *S. aureus* RN4220 методом гомологичной рекомбинации была произведена делеция гена *efp*. Для этого в вектор pKOR1 была осуществлена вставка двух «фланков» – нуклеотидных последовательностей размером 1 кБ, в геноме примыкающих к гену с обеих сторон. После успешной электропорации и наращивании бактериальной массы, клетки растили при 43°C, чтобы избавиться от клеток с плазмидой, которая разрушается при воздействии высоких температур. В дальнейшем к клеткам добавляли ангидротетрациклин, который в плазмиде pKOR1 запускает синтез антисенс-РНК – таким образом производилась селекция клеток, в которых плазида в любом виде отсутствует. На последнем этапе производился поиск колоний с прошедшей рекомбинацией с помощью ПЦР.

В результате делеции выяснилось, что рост делеционного мутанта в первые 11 часов отставал от такового у исходного штамма и при разведении в среде хлорамфеникола угнетение роста мутанта происходило интенсивнее. При посеве *efp* мутанта с делетированным геном на среду с казеином молока, он показал полное отсутствие протеазной активности по сравнению с диким типом. При анализе секретируемых во внешнюю среду белков было показано снижение концентрации экзопротеинов, а в случае отдельных белков полное их отсутствие у делеционного мутанта. Выделение внеклеточных белков производилось методом концентрирования среды, после ее отделения от культуры, с помощью фильтра с отсечкой 10 кДа (Millipore, Germany).

Учитывая важную роль EF-P в жизнедеятельности *S. aureus*, этот белок является многообещающей и селективной мишенью для нового поколения антистафилококковых препаратов.

ОЦЕНКА РАССЕИВАЮЩИХ СВОЙСТВ БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

Л. С. Кухнина¹, К. А. Ачкасова¹, А. А. Моисеев², А. Ю. Богомолова¹, Н. Д. Гладкова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

kuhnina.ludmila@yandex.ru

²Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Введение. Радикальное удаление опухоли с последующей лучевой и химиотерапией является стандартом лечения глиом. Несмотря на агрессивное лечение 90% пациентов с глиобластомой сталкиваются с рецидивом и нуждаются в повторной операции. Однако возникшие после лучевой терапии изменения в белом веществе усложняют определение границ резекции. В последнее время разрабатываются технологии, позволяющие оценивать состояние биологической ткани, среди которых можно выделить оптическую когерентную томографию (ОКТ).

Цель. Провести оценку влияния ионизирующего излучения на белое вещество головного мозга (ГМ) крысы при помощи ОКТ.

Материалы и методы. Проведено исследование на *ex vivo* образцах ГМ крыс ($n = 56$, экспериментальная группа $n = 36$, контрольная группа $n = 21$). Экспериментальная группа подверглась однократному облучению правого полушария ГМ в дозе 15 Гр. Животные выводились из эксперимента с периодичностью в 2 недели, в 7 временных точках (2-14 недель). Мозг извлекался из полости черепа и проводилось ОКТ исследование фронтальных срезов. Количественная обработка трехмерных массивов ОКТ данных проводилась путём расчета коэффициента затухания. По окончании исследования образцы были направлены на гистологическое исследование с окрашиванием гематоксилин-эозином и на иммуногистохимическое исследование с использованием антител к основному белку миелина.

Результаты. Мозолистое тело было выбрано в качестве области интереса. В каждой временной точке были рассчитаны значения коэффициента затухания. Через 2 недели после облучения (на стадии острых изменений) наблюдалось значимое снижение коэффициента затухания в облученном полушарии по сравнению с контралатеральным ($p < 0,0007$) и контрольной группой ($p < 0,0002$). В белом веществе мозолистого тела облученного полушария был обнаружен легкий отек, характеризующийся увеличением количества и размеров промежутков между миелиновыми волокнами. На стадии ранних отсроченных изменений (на 6 и 12 неделе) было значимое снижение коэффициента затухания в области облученного и контралатерального полушария по сравнению с контрольной группой ($p < 0,036$). В данные временные точки в области интереса был обнаружен отек, более выраженный в сравнении с двухнедельным сроком. Изменения затронули как облученное, так и контралатеральное полушарие. Отек в контралатеральном полушарии был менее выражен, чем в облученном. Демиелинизация и разрушение волокон не были выявлены на всех исследуемых временных точках.

Заключение. Применение количественных характеристик ОКТ изображений позволяет выявить острые и ранние отсроченные структурные изменения в белом веществе после воздействия на него ионизирующего излучения. ОКТ является перспективным методом для визуализации белого вещества и оценки состояния белого вещества.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ №23-25-00118.

МЕХАНИЗМЫ ОСМОТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM S6*

А. А. Лазарева, Д. С. Матюшкина, В. М. Говорун

ФБУН НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, 117246, Москва, Научный проезд, 18;
a.lazareva@sysbiomed.ru

В ходе эволюции многие микроорганизмы адаптируются все к новым и новым вызовам, создавая подходящие механизмы поддержания жизнедеятельности и приспособливая существующие. Так, стратегии выживания бактерий могут опосредовать механизмы устойчивости к другим воздействиям. Например, SOS-реакция, вызванная повреждением ДНК, способствует горизонтальному переносу генов. А двухкомпонентная система может запускать, как развитие устойчивости к антибиотикам, так и модификацию клеточной поверхности, регулируя продукцию ферментов и работу мембранных переносчиков. Именно поэтому глубокое исследование механизмов устойчивости к различным стрессам позволяет понять принципы организации живой материи. В этой работе была изучена реакция одной из простейших свободноживущих Грам-отрицательных бактерий *Mycoplasma gallisepticum S6* на изменение осмотических условий среды.

На полученных клональных культурах была изучена зависимость скорости роста, выживаемости, размера и динамики протеома клеток от концентрации NaCl в среде для культивации. Принимая за стандартные условия содержание 85 мМ NaCl, обнаружено замедление скорости роста культуры при выходе концентрации NaCl из диапазона от 30 мМ до 160 мМ, снижение скорости деления в два раза при 0 и 250 мМ хлорида натрия и полная остановка роста при достижении 500 мМ (определение количества колоний образующих единиц после 60 часовой инкубации показало сохранение жизнеспособных клеток в количестве, соответствующем их начальной концентрации). При этом измерения с помощью метода динамического светорассеяния показали уменьшение медианного размера клеток в гипосмотических условиях и увеличение в гиперосмотических, достигая удвоения радиуса клетки при 0,5 М соли.

Данная работа выполнена при поддержке службы Роспотребнадзора ГЗ №1022040800170-3-1.6.23 «Создание искусственных клеточных систем».

РАЗРАБОТКА CRISPR/CAS9 ВЕКТОРА ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА ЛИХЕНИЗИНА В ГЕНОМЕ *BACILLUS PUMILUS* 3-19

Е. Э. Ласточкина, Н. Л. Рудакова, Ю. В. Данилова, Д. И. Хасанов, Ю. А. Васильева, А. И. Гильмутдинова, Е. С. Волкова, М. Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
lelya_lastochkina@bk.ru

Биосурфактанты являются вторичными метаболитами микроорганизмов, растений, высших животных, и по своим свойствам выступают в качестве поверхностно-активных веществ (ПАВ). В настоящее время биосурфактанты широко применяются в нефтяной и добывающей промышленности, медицине, косметологии и т.д. Выявление функций биосурфактантов также необходимо и для устойчивого развития сельского хозяйства. Известно, что биосурфактанты, продуцируемые бактериями ризосферы, проявляют антагонистические свойства против патогенов растений. Помимо этого, применение биосурфактантов способствует развитию таких механизмов взаимодействия микроорганизмов с растениями, как антибиоз, конкуренция и индуцированная системная устойчивость. Однако для более глобального понимания роли биосурфактантов микроорганизмов на растениях необходимо изучить как целевая инактивация генов, отвечающих за выработку сурфактантов у штаммов-продуцентов ризобактерий скажется на их микробно-растительных взаимодействиях. В качестве перспективных продуцентов биосурфактантов выступают почвенные бактерии рода *Bacillus*, поэтому в настоящей работе нами был выбран штамм *Bacillus pumilus* 3-19 из коллекции микроорганизмов НИЛ «Агробиоинженерия», продуцирующий биосурфактант лихенизин.

Целью данного исследования явилось создание плазмидного вектора для целевой инактивации гена лихенизина в геноме *Bacillus pumilus* 3-19 методом CRISPR/Cas9 редактирования.

В настоящей работе был использован вектор pJOE9282.1, содержащий систему CRISPR/Cas9, находящуюся под контролем ксилроза-индуцируемого промотора P_{xyI} [2]. Для вставки направляющей последовательности (sgRNA) вектор предварительно расщепляли по сайту рестрикции BsaI, после чего последовательность sgRNA интегрировали в рестрицированный вектор. После этого были получены фланкирующие последовательности гена лихенизина методом ПЦР с геномной ДНК *B. pumilus* 3-19, которые затем встроили по сайту рестрикции SfiI вектора pJOE9282.1. Наличие вставок sgRNA и фланкирующих последовательностей гена-мишени подтверждали методом ПЦР и секвенированием.

В результате работы был получен и клонирован вектор pLE11.23, который будет трансформирован в клетки *B. pumilus* 3-19 методом электрофорации для получения делеционного мутанта с инактивированным геном лихенизина. После чего полученный штамм будет трансформирован плазмидным вектором, содержащим GFP белок для дальнейших экспериментов по выяснению роли биосурфактантов в микробно-растительных взаимодействиях на *Solanum tuberosum* L. и *Arabidopsis thaliana*.

РНФ №22-16-00138.

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ, ОБРАЗУЕМЫХ ПРИ ЛАЗЕРНОЙ
БИОПЕЧАТИ, НА КИНЕТИКУ РОСТА *E. COLI*
Н. С. Левашов^{1, 2}, *В. С. Ченцов*^{1, 2}, *В. С. Жигарьков*¹**

¹«Институт фотонных технологий» Курчатовского комплекса кристаллографии и фотоники
НИЦ «Курчатовский институт», Москва, 119333, Ленинский проспект, 59;
vzhigarkov@gmail.com

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

Биопечать на основе прямого лазерно-индуцированного переноса (LIFT), позволяет переносить с поверхности поглощающей металлической плёнки малые объемы вещества в гелевых микрокаплях. Возможности биопечати находят применение в решении задач медицины и биотехнологии. С помощью лазерной биопечати создают многослойные клеточные конструкции и переносят клеточные сфероиды. Высокая степень локализации лазерного излучения и перенос крайне малых объемов геля позволяют проводить разделение микробных клеток, взятых из сложных природных гетерогенных сред. Однако частицы металла могут переноситься вместе с клетками и оказывать негативное влияние на их жизнедеятельность в процессе роста. В зависимости от формы, размера и концентрации металлических частиц степень токсического воздействия может быть различной.

В работе проведен синтез наночастиц золота посредством импульсной лазерной абляции и исследованы их характеристики посредством РЭМ и динамического рассеяния света. Осуществлен анализ размеров, измерена концентрация водного раствора частиц, а также измерен ζ -потенциал синтезированных частиц.

Для оценки влияния наночастиц на физиологическое состояние бактерий была изучена кинетика роста *E. coli* в присутствии наночастиц. Объектом исследования являлся штамм *Escherichia coli* ATCC-25922. Биомасса бактерий наращивалась в 96-луночных планшетах в жидкой среде LB с добавлением и без добавления (контроль) наночастиц в течение 10 суток со снятием оптической плотности среды каждые 30 минут при 620 нм. В присутствии наночастиц наблюдались небольшие, но статистически значимые отличия ряда кинетических параметров от контроля.

Результаты позволяют предполагать, что при LIFT каждой микрокапли геля с микроорганизмами возникают несколько отличающихся условий на начальных стадиях роста популяции клеток. Полученные данные отчасти объясняют наблюдавшийся ранее эффект увеличения культивируемого разнообразия бактерий при их выделении из почв с помощью LIFT в сравнении с микробиологическим посевом. Лазерная биопечать из сложных природных сред, вероятно, не только обеспечивает пространственное разделение микробных клеток, но и увеличивает количество физиологических состояний и/или начальных условий культивирования микроорганизмов.

Работа поддержана Российским научным фондом (№ 20-14-00286) в части проведения микробиологических исследований, а также частично поддержана государственным заданием НИЦ «Курчатовский институт» в части лазерного синтеза материалов для изучения воздействия наночастиц золота на микроорганизмы.

ВЛИЯНИЕ КОРОТКИХ СВЕТО-ТЕМНОВЫХ ЦИКЛОВ НА УРОЖАЙНОСТЬ И ПИЩЕВУЮ ЦЕННОСТЬ ПОБЕГОВ ГОРОХА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА ФИТОФЕРМАХ

И. А. Лёвкин, Е. Г. Шерудило, А. А. Рубаева, А. Ф. Титов, Т. Г. Шibaева

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», 185910,
Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11;
levkin-556@mail.ru

Горох (*Lathyrus oleraceus* Lam.) одна из самых распространенных бобовых культур в мире. Его обычно употребляют в виде семян, богатых белком, витаминами и минералами. Употребление в пищу побегов гороха не так широко распространено, однако этот относительно новый листовой овощ, традиционно выращиваемый в Азии, становится все более популярным во всем мире как функциональный продукт питания, богатый полезными для здоровья человека биологически активными соединениями.

При выращивании растений на вертикальных фермах с искусственным освещением цикл день/ночь может иметь любую продолжительность и быть короче или длиннее естественного 24 ч цикла. Целью данного исследования было оценить влияние укороченных свето-темновых циклов (8/4 ч, 4/4 ч и 4/2 ч) на урожайность и пищевую ценность побегов гороха. В качестве контроля использовали фотопериод 12/12 ч.

Растения гороха (с. Мадрас) выращивали на агровате при температуре 22°C, относительной влажности воздуха 60%. Полив производили питательным раствором. Освещение обеспечивали светодиодными светильниками с соотношением (%) красный : зеленый : синий 50 : 21 : 18. Освещенность составляла 150 мкмоль/(м² с) ФАР. Интеграл дневного освещения (ИДО) для 12 ч фотопериода и цикла 4/4 ч составила 6,48 моль/(м² сут), а для циклов 8/4 ч и 4/2 ч 8,64 моль/(м² сут).

Укороченные свето-темновые циклы не вызывали увеличения урожайности побегов гороха, но повышали индекс робастности (показатель качества), содержание флавоноидов, пролина, белка и растворимых сахаров. Эффекты были наиболее выражены у растений, выращенных в условиях циклов 8/4 ч и 4/4 ч. Содержание воды и хлорофилла у этих растений было сопоставимо с контролем.

Все растения, выращенные в условиях укороченных циклов, имели несколько более высокое содержание перекиси водорода по сравнению с контролем, но максимальные значения были отмечены у растений в условиях циклов 4/4 ч и 4/2 ч. При этом ИДО был одинаковым в контроле и при цикле 4/4 ч, но укороченный цикл вызывал накопление перекиси водорода. Таким образом, логично полагать, что ИДО не играет ключевой роли при сравнении реакций растений на обычный фотопериод и аномальные свето-темновые циклы. Можно предположить, что освещение растений в то время когда должна быть ночь (темнота), приводит к циркадной асинхронии, т.е. несоответствию внутренних (циркадных) биоритмов и внешнего цикла день/ночь.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00160).

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОРФИРИНОВОГО КОЛЬЦА В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА C С КАРДИОЛИПИНОМ

И. Н. Левченко¹, В. С. Панкратов², Г. К. Владимиров³, А. А. Левченко⁴, И. В. Володяев⁵

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, 117513, Москва, ул. Островитянова, 1
irnlevchenko@yandex.ru

²Московский авиационный институт, 125993, Москва, Волоколамское шоссе, 4

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Институт регенеративной медицины, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8

⁴Пермский национальный исследовательский политехнический университет, 614990, Пермь, просп. Комсомольский, 29

⁵Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

Аннотация: В клетках человека цитохром *C* выполняет, по меньшей мере, четыре совершенно разные функции: 1) участвует в клеточном дыхании – переносит электроны во внутренней мембране митохондрий с дыхательного комплекса III на дыхательный комплекс IV; 2) окисленная форма цитохрома *C* способна окислять супероксидный радикал с образованием O₂; 3) апоптотическая роль в цитоплазме; 4) катализ реакции перекисного окисления липидов, которая является причиной его выхода из митохондрий и запуска апоптоза. Этот катализ осуществляют молекулы цитохрома *C*, связанные с кардиолипином, входящим в состав фосфолипидного липидного бислоя внутренней мембраны митохондрий.

Факторы, которые искажали значение моделирования структуры порфиринового кольца не достаточное добавление пероксида водорода, избыточное количество азота (II), метанола, денатурация белка, изменение конформации цитохрома *C* в комплексе цитохрома *C* с кардиолипином. Проанализированы системы липопероксидазной и квази-липоксигеназной реакций.

Результаты: комплекс цитохрома *C* с кардиолипином отличается от нативного цитохрома по свойствам: (1) обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков; (2) теряет поглощение в полосе Soret (405-410 нм); (3) при нейтральном pH гем в цитохроме *C* существует в низко-спиновой конфигурации, и железный центр шестиугольно координирован пирролическими азотами из порфиринового кольца и аксиальными лимандами Met80 и His18 апопротеина; (4) пероксидазная активность зависит не только от концентрации цитохрома *C* с кардиолипином, но и от соотношения определяющего процент абсолютного количества денатурированной формы; (5) полученные нами результаты могут стать основой для создания лекарственных препаратов нового образца, которые, являясь элементами клетки, соответственно, влияют на раковые клетки и нечувствительны к синтетическим препаратам.

АКТИВНОСТЬ ЭНДОЛИЗИНА LYSAP22 В ОТНОШЕНИИ МОНО- И ДВУВИДОВЫХ БИОПЛЕНОК ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

А. М. Лендел, Н. П. Антонова, Д. В. Васина

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18;
funnyeast@yandex.ru

Большинство бактериальных инфекций человека ассоциированы как с моно-, так и с поли-видовыми биопленками возбудителей этих заболеваний. Образование биопленок (БП) препятствует лекарственному действию даже самых современных препаратов, поэтому разработка терапевтических молекул должна учитывать также аспекты их взаимодействия с биопленочными сообществами. В последнее десятилетие эндолизины бактериофагов зарекомендовали себя в качестве перспективной основы лекарственного средства в борьбе с антибиотикоустойчивыми бактериями. На сегодняшний день есть ряд косвенных свидетельств в пользу взаимодействия лизинов с матриксом БП, неоднозначно сказывающего на антибактериальном действии этих белков.

Эндолизин LysAp22 принадлежит к суперсемейству мурамидаз (подсемейство cd00737), которые гидролизуют гликозидные β -1,4-связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозаминном бактериального пептидогликана, и активен в отношении энтеробактерий (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* и *Enterobacter spp.*), а также *Acinetobacter baumannii*. Целью этого исследования стала характеристика действия LysAp22 на гетерогенные одновидовые и смешанные биопленки бактерий *K. pneumoniae* и *A. baumannii*.

С помощью бактериоскопических методов (морфотипирование, флуоресцентная микроскопия) продемонстрировано, что исследуемые бактериальные изоляты успешно формируют моно- и двувидовые биопленки, что также было подтверждено количественно. Показано, что LysAp22 проявляет антибактериальную активность в отношении всех типов сформированных биопленок, при этом обработка биопленок 1000 мкг/мл фермента приводила к значительной редукции их биомассы вплоть до уровня отрицательного контроля. После оценки содержания компонентов пленочного матрикса, было исследовано потенциальное взаимодействие LysAp22 с наиболее значимыми из них. Согласно полученным результатам, LysAp22 успешно разрушает моно- и двувидовые биопленки не только за счет инициации лизиса бактериальных клеток, но и обладает дополнительным эффектом, обусловленным значительной дестабилизацией структуры БП за счет взаимодействия с полианионными экзополисахаридами (ЭПС). Помимо этого, обнаружено, что детектируемое связывание этого эндолизина с ДНК и ЭПС не приводит к значительной потере антибактериальной активности LysAp22.

ДИНАМИКА И ЗАПАСЫ УГЛЕРОДА В ФИТОМАССЕ НЕНАРУШЕННОГО ПОЙМЕННОГО БОЛОТА

О. А. Леонова

Тульский государственный университет, 300012, Тула, просп. Ленина, 92;
ya.oly2012@yandex.ru

Болота выполняют одну из важнейших биосферных функций – участие в биогеохимическом круговороте углерода. В таких экосистемах аккумуляция углекислого газа превышает его эмиссию. Связывание углекислого газа осуществляют болотные растения в процессе фотосинтеза, что приводит к накоплению углерода в биомассе, а затем при отмирании растений углерод аккумулируется в мортмассе. Таким образом, фитомасса является основным «депо» углерода в растительных сообществах. Запасы фитомассы и углерода – важнейшие показатели функционирования болотных экосистем. В северо-восточной части Среднерусской возвышенности наибольшие площади занимают пойменные болота, однако значительная часть таких болот нарушена в ходе торфоразработок и мелиоративных мероприятий. Объектом данного исследования явилось ненарушенное пойменное болото Подкосьюмово (Тульская область). Исследования по оценке запасов углерода в фитомассе этого болота позволят охарактеризовать роль разных биотопов пойменных болот в углеродном обмене с атмосферой. Запасы фитомассы определяли в осоковом и таволговом сообществах в начале и в конце вегетационного сезона. При этом, запасы надземной фитомассы определяли укосным методом на модельных участках, подземной – методом монолитов. Отобранный материал разбирали по фракциям, высушивали и взвешивали, рассчитывали долю каждой фракции (%). В дальнейшем, во всех фракциях определяли зольность (%) и содержание карбонатов (%) гравиметрическим методом, на основании чего рассчитывали долю органического вещества (ОВ). Для расчета содержания органического углерода полученное значение ОВ умножали на массовую долю углерода (определение проводили на CHNSO-анализаторе LECO TruSpecMicro в Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН). Определение запасов углерода (гС/м^2) во фракциях фитомассы проводили, зная содержание углерода (%) и умножали на массу каждой фракции. Оценка запасов углерода в весенний период показала, что в надземной биомассе таволгового сообщества показатель составил $87,2 \text{ гС/м}^2$, в осоковом – $62,3 \text{ гС/м}^2$. К концу вегетационного сезона запасы углерода в данной фракции таволгового сообщества увеличились до $332,7 \text{ гС/м}^2$, а в осоковом ценозе составили 164 гС/м^2 . При этом, запасы углерода в мортмассе указанных сообществ увеличиваются от $477,47$ до $574,9 \text{ гС/м}^2$ в осоковом сообществе и с $435,24$ до $444,7 \text{ гС/м}^2$ в таволговом ценозе. Как видно, именно в мортмассе происходит накопление основного запаса углерода в надземной части сообществ болот в конце вегетационного сезона. В результате, в надземной части сообществ запас углерода составляет $738,9\text{--}767,9 \text{ гС/м}^2$. В подземной части углерод накапливается в живых и мертвых корнях, а также в торфе, где показатель максимален ($4815,83\text{--}5010,3 \text{ гС/м}^2$) и в течение вегетационного сезона меняется незначительно. Таким образом, в течение вегетационного сезона происходит накопление углерода в разных фракциях фитомассы растительных сообществ пойменного болота. Максимальные запасы углерода характерны для таволгового сообщества в осенний период ($7170,4 \text{ гС/м}^2$). В структуре фитомассы наибольшая доля углерода аккумулируется в подземной части (88–89% от общей фитомассы).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ No 23-24-10054 «Оценка роли разных типов болот Среднерусской возвышенности в углеродном обмене с атмосферой как основа для создания карбонового полигона (на примере Тульской области)» и соглашения с комитетом Тульской области по науке и инноватике No10 от 11.04.2023 г.

COGNITIVE ARCHITECTURE OF THE CHAOTIC PATTERNS LEARNING

P. A. Lekhnitskaya

Kazan Federal University, 420008, Kazan, Kremlyovskaya str., 18;

lekhnitskaya.polina@gmail.com

Current tendencies in behavioral data assessment are largely based on advances in the artificial intelligence domain. A serious limitation here is the computational complexity of some algorithms, expressed in execution time and memory consumption. This study suggests that by creating a cognitive architecture based on empirical data, it will be possible to get the more accurate human-like behavior model, thus optimize time and memory consumption.

The initial empirical base was collected using a stationary monitor eye-tracking system (EyeLink 1000 Plus). It was proposed to understand the dots pattern and find it during validation. The experiment included 9 trials with learning and validation (1 correct stimulus and 4 distractors) phases. During the trials, the same pattern of dots was implied, but dots which formed one pattern were presented in random order one by one.

31 subjects (5 males, mean age – 19 years) with normal or corrected to normal vision were recruited for the study, and an informed consent was signed.

To find if there were implicit reactions to true and wrong patterns at the beginning of validation, the Mann-Whitney U Test was applied. The statistically significant difference was obtained in average fixation duration ($z = -1,98$, $p = 0,047$), the value of these metrics was higher on the wrong pattern. At the end of validation, the 8th trial was taken; there were no differences in average fixation duration ($z = -0,79$, $p = 0,427$). Taking all trials together, the average fixation duration also does not differ ($z = -0,64$, $p = 0,52$). Based on the obtained results, it is possible to further create a cognitive architecture.

At the end of the experiment, subjects were asked to describe what strategy they used to select the correct dots pattern. All the answers can be grouped in two categories: remembering the position of certain groups of dots (G1), creating an image from dots and remembering the created image (G2). Since in both strategies the participants memorized only part of the presented dots, the size of such a “window” is to be determined for the architecture. The gradient of the data is used to calculate this window size. Then the float result is converted to an integer value. The G2 strategy may be represented computationally in calculation correlations and finding the most persistent ones.

The described architecture is to be taken as a basis for the model of statistical learning of chaotic patterns, can be used for machine learning data representation as a way to express the implicit features of the target object.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКОБИОМА ВЕРЕСКОВЫХ – ТЕМНОГО СЕПТИРОВАННОГО ЭНДОФИТА И ГРИБА ЭРИКОИДНОЙ МИКОРИЗЫ

*А. Д. Лимонова*¹, *В. С. Михеев*¹, *И. В. Стручкова*¹, *М. Н. Агеева*²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nastenka17103012@yandex.ru

²ООО «Микофит», 606440, Бор Нижегородской обл., ул. Интернациональная, 56Б

Успешное существование растений сем. *Ericaceae* невозможно без симбиотических связей с корневыми микобионтами, наиболее важными из которых являются грибы эрикоидной микоризы (ErM) и темные септированные эндофиты (DSE – «Dark Septate Endophytes»). Некоторые, но не все, грибные симбионты выделяют фитазы, высвобождающие фосфор из фитата, тем самым делают фосфор доступным для растения. Обнаружение видов и штаммов грибов-фосфатмобилизаторов открывает возможность их применения на плантациях для улучшения фосфорного питания Вересковых. Целью нашей работы стало определение фитазной активности (ФА) у DSE-изолятов, выделенных нами из корней брусники *Vaccinium vitis-idaea* L., а также у гриба ErM *Oidiiodendron maius* Barron VKM F3860, полученного из Всероссийской коллекции микроорганизмов.

Для выделения использовали тонкие корни дикорастущих растений брусники, собранных в Нижегородской области. Их очищали и поверхностно стерилизовали по методу Берча, размещали на поверхности агаризованной питательной среды Чапека-Докса и группировали прорастающие изоляты на основе скорости роста и морфологии. Далее 5 изолятов (обозначенных шифрами с BP1 по BP5) были определены до вида в ЦКП «Биотехнология» ФГБНУ ВНИИСБ, 4 из них (BP1-4) исследованы на наличие ФА. В качестве объекта сравнения выступал *Phialocephala fortinii* DSE2 – изолят, показавший свою ФА в наших более ранних работах. Изоляты BP1-5 и *O. maius* VKM F3860 выращивали в монокультуре 14 суток стационарно на жидкой среде Чапека. Мицелий удаляли фильтрованием. В культуральной жидкости определяли ФА спектрофотометрически ($\lambda=355$ нм) по прибыли неорганического фосфора, высвобождаемого ферментом из фитата. За единицу удельной активности фитазы (U) принимали количество мкг фосфора, высвобождаемого ферментом из фитата натрия за 1 минуту в расчете на 1 мг белка. Для определения фосфора использовали модифицированный метод Грайнера. Концентрацию белка в культуральной жидкости определяли методом Лоури.

Из корней брусники были выделены 5 изолятов DSE, 4 из них относились к DSE (BP1-BP3 – *P. fortinii*, BP4 – *P. sphaeroides*) и 1 – к ErM (BP5, *Rhizoscyphus ericae*). Из-за гибели культуры ФА BP5 не определяли. ФА изолятов BP1, BP2, BP3 и *O. maius* VKM F3860 не отличалась от ФА изолята DSE2 (максимальное значение 7U). У BP4 ФА отсутствовала.

Таким образом, в отличие от организма сравнения *P. fortinii* DSE2, выделенный нами из корней брусники изолят BP4 *P. sphaeroides* не проявил ФА. Изоляты BP1, BP2, BP3 и *O. maius* VKM F3860, обладающие ФА, являются перспективными фосфатмобилизаторами.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММЫ IMAGEJ ДЛЯ ПОДСЧЕТА КЛЕТОК НИТЧАТЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В СЧЕТНОЙ КАМЕРЕ

Т. А. Лукашова, Н. А. Старцева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lukatania@bk.ru

В экологических исследованиях численность фитопланктона 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, например, используется счетная камера Нажотта площадью 1 см^2 , глубиной $0,1 \text{ мм}$ и общим объемом $0,01 \text{ мл}$. 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.

В эвтрофных водных экосистемах часто возникает явление «цветения» воды, вызываемое массовым развитием цианобактерий. Например, нитчатая цианобактерия *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralf et Born et Flah может достигать численности в десятки и сотни миллионов клеток в литре. *A. flos-aquae* образует более или менее прямые трихомы до 200 мкм длиной, состоящие из цилиндрических клеток. Трихомы часто сгруппированы в пучковидные колонии длиной до 2 сантиметра , нити в которых лежат более или менее параллельно друг другу. Из-за такого расположения нитей точно определить число клеток цианобактерии невозможно.

Целью настоящей работы было определение числа клеток *A. flos-aquae* в пробе с использованием программы ImageJ. Для разрушения слизи, скрепляющей нити в пучки, на пробу воды дважды по $1,5 \text{ мин}$ воздействовали ультразвуком на частоте 40 Гц в ультразвуковой ванне Quick 218-35. В результате пучки разбились, нити расположились отдельно друг от друга. Для подсчета числа клеток *Aphanizomenon flos-aquae* в аликвоте пробы предлагается использовать два способа: первый – с измерением длины трихомов, второй – с подсчетом их количества. Для обоих способов вычисления числа клеток была сделана 101 фотография полей зрения при 1000 -кратном увеличении, что соответствовало площади одной полосы камеры. Поля зрения выбирались по принципу случайной выборки. Далее в программу ImageJ загрузили данные изображения, измерили и зафиксировали длину линейки в пикселях. Для измерения суммы длины всех трихомов на копиях фотографий построили прямые линии поверх каждого трихома и вывели результаты в итоговую таблицу. После сумму длин всех нитей разделили на среднюю длину одной клетки, получив число клеток в одной полосе. Для подсчета количества трихомов на фотографиях на каждый трихом ставилась точка для их автоматического подсчета. Далее число трихомов умножали на их среднюю длину и делили на среднюю длину клетки, получив, таким образом, число клеток. Зная число клеток в одной полосе камеры, можно произвести пересчет клеток на всю камеру, а затем и на литр или м^3 по специальной формуле. Предлагаемый способ подсчета числа клеток в программе ImageJ может служить альтернативой прямому подсчету числа клеток некоторых нитчатых цианобактерий.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ НЕРИБОСОМАЛЬНО-ПЕПТИД СИНТЕТАЗ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *BACILLUS SUBTILIS* GM5 Г. Ф. Лутфуллина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
g.h95@mail.ru

Наиболее перспективными кормовыми добавками являются пробиотики, которые дополняют желудочно-кишечную флору и способствуют поддержанию здоровой пищеварительной системы. В настоящее время все более широкое применение находят пробиотики на основе спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, которые, влияя на морфологическую структуру и здоровье кишечника, улучшают усвояемость питательных веществ, модулируют кишечную микробиоту и повышают иммунный статус цыплят бройлеров. Кроме того, известно, что виды *Bacillus* продуцируют широкий спектр вторичных метаболитов, которые включают антибиотики и липопептиды, такие как итурин, сурфактин, фенгицины и бактериоцины, обладающие противомикробной активностью. Продукция антимикробных соединений является одним из механизмов, с помощью которых пробиотические бактерии оказывают благоприятное воздействие на хозяина, предположительно за счет ингибирования роста и колонизации патогенных бактерий желудочно-кишечного тракта. Вследствие этого поиск генетических кластеров антимикробных липопептидов новых пробиотических штаммов *Bacillus* является актуальной задачей.

Секвенирование генома бактерии *Bacillus subtilis* GM5 проводили на платформе Illumina MiSeq (США). Сборку *de novo* и анализ контигов проводили с использованием SPAdes_v3.8.1. Статистику сборки рассчитывали с помощью программы QUAST_v2.3. Для аннотации и анализа геномных кластеров вторичных метаболитов использовали программу antiSMASH v.4.0.

Сборка генома *B. subtilis* GM5 депонирована в БД NCBI под номером NZ_NKJH00000000. Геном GM5 размером 4.271.280 п.н. состоит из 21 контига (>200 п.о.), объединенных в 19 скаффолдов. Значение N50 = 551.988 п.о., L50 = 2 п.о., GC-состав = 43.3%, количество кодирующих последовательностей 4479, количество генов РНК равно 98. Показано, что штамм GM5 имеет гомологию 99% с известным штаммом *Bacillus subtilis* 168.

С помощью программы antiSMASH в геноме штамма GM5 выявлено 33 генных кластера, ответственных за синтез вторичных метаболитов, среди которых были обнаружены шесть кластеров НРПС: BGC0001089_c1 Bacillaene_biosynthetic_gene_cluster; BGC0001184_c1 Bacilysin_biosynthetic_gene_cluster; BGC0000309_c1 Bacillibactin_biosynthetic_gene_cluster; BGC0000433_c1 Surfactin_biosynthetic_gene_cluster; BGC0001095_c1 Fengycin_biosynthetic_gene_cluster, BGC0000407_c1 Plipastatin_biosynthetic_gene_cluster. Показано, что геном штамма *B. subtilis* GM5 содержит шесть генных кластеров НРПС, в отличие от других штаммов *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens*, которые чаще всего содержат только 2 или 3 кластера генов НРПС. Таким образом, пробиотический штамм *B. subtilis* GM5 обладает высоким потенциалом антимикробной активности, обусловленной наличием в геноме генов синтеза различных антимикробных метаболитов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00272, <https://rscf.ru/project/24-26-00272/>

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ИЗ ПОГРУЖЕННОЙ КУЛЬТУРЫ *FOMITOPSIS BETULINA*

В. С. Лысакова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г. Ф. Гаузе», 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, 11;
valera.lisackowa@yandex.ru

Трутовик березовый *Fomitopsis betulina* – распространенный базидиальный гриб, паразитирующий на деревьях рода *Betula*. В народной медицине базидиомы *F. betulina* применяли в качестве кровоостанавливающего, асептического средства, для лечения желудочно-кишечных болезней. Современные научные исследования выявили противоопухолевые, антиоксидантные, антибактериальные, иммуномодулирующие свойства метаболитов *F. betulina*.

Цель выявить зависимость спектра и величины антимикробной активности экзометаболитов *F. betulina* от источников углерода и азота.

Погруженное культивирование *F. betulina* штамм 3 проводили на 6 жидких питательных средах, представляющих собой сочетание 2 источников углерода (глюкоза, сахароза) и 3 источников азота (пептон, дрожжевой экстракт, соевая мука).

Изучали нативные фильтраты культуральных жидкостей (кж) и этилацетатные экстракты этих фильтратов. Определение антибиотической активности проводили методом диффузии из лунок в агар с использованием панели тест-культур, включающей грамположительные, и грамотрицательные бактерии, дрожжеподобные и мицелиальные грибы. Наибольшую широту и величину антимикробной активности обеспечивали среды с глюкозой. Наиболее эффективным было сочетание глюкозы с дрожжевым экстрактом. Экстракт экзометаболитов, полученных на этой среде обладал высокой антибактериальной активностью, в том числе в отношении *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* (зона ингибирования роста 25+ мм). Антифунгальная активность в отношении *Fusarium oxysporum* была обнаружена только у экстракта кж *F. betulina*, выращенной на пептоне и глюкозе.

На основе этих результатов была модифицирована ферментативная среда и далее определены значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) экстракта кж на более широкой панели грамположительных и грамотрицательных культур. Наименьшее значение МПК экстракта составило 640 мкг/мл и было отмечено в отношении большинства тест-культур, в том числе *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*.

Таким образом показано, что спектр и величина антимикробной активности экзометаболитов *F. betulina* прежде всего зависит от источника углерода питательной среды. Выявлены сочетания источников питания, обеспечивающих антибактериальную и/или антифунгальную активность.

СИНКЕНИЗИИ КАК МАРКЕР РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Н. В. Лычагина, М. А. Яковлева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nata.lychagina.02@bk.ru

Синкинезии – непроизвольные движения, возникающие на фоне произвольных движений. Проявление синкинезий у детей наблюдается при целенаправленной произвольной деятельности. Исследование синкинезий детей младшего школьного возраста с разными вариантами развития представляет научный интерес, так как позволяет определить закономерности возрастного становления и влияние на этот процесс ряда факторов.

Нейрофизиологическое исследование проводилось в два этапа в течение двух лет на базе МБОУ «Средняя школа № 54» города Нижнего Новгорода. Испытуемыми являлись дети младшего школьного возраста, учащиеся второго, а затем третьего класса. Диагностика проводилась с 9:00 до 11:00 часов и на основе письменного согласия родителей. Использовалась батарея проб, в которую вошли методики для определения качественных и количественных характеристик синкинезий; корректурные проба Бурдона на исследование статических и динамических свойств внимания и для выявления степени утомляемости; программа «PsychoPy» для фиксации времени реагирования на зрительный стимул. Данные были обработаны статистически, проведена оценка корреляции.

По результатам обработки данных была обнаружена корреляция между показателями синкинезий и характеристиками нарушения свойств внимания, сенсо-моторных реакций.

У детей с нормотипией появление и уровень выраженности произвольных движений сопровождается нарушением процессов внимания, что указывает на утомление.

Иная ситуация происходит у детей с ЗПР. При утомлении у них так же, как и у нормотипичных сверстников, увеличивается проявление синкинезий. В свою очередь, именно синкинезии вносят существенный вклад в состояние утомления.

Таким образом, разнообразие и количество синкинезий у данной группы детей истощает энергетические ресурсы, что приводит к увеличению степени утомления.

Присутствие односторонних и двусторонних синкинезий детей с ЗПР указывает на процессы чередования функционального блока, и на перегрузку нервной системы. Синкинезии у детей с ОВЗ преобладали на правой руке, либо с приблизительно одинаковой частотой на обеих руках. Следовательно, для детей младшего школьного возраста с нарушением развития установлен правый функциональный профиль латеральной асимметрии и неустановившейся латеральный фенотип. Однако была выявлена положительная динамика развития внутри- и межполушарных взаимодействий детей двух групп в виде уменьшения количества и разнообразия синкинезий при их сравнении в два этапа нейрофизиологического исследования, что говорит о развивающейся оптимальности внутри- и межполушарных взаимодействий в реализации двигательного функционирования.

ОЦЕНКА НЕМАТЕРИАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМНЫХ УСЛУГ НА ОСНОВЕ АЛГОРИТМОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ (НА ПРИМЕРЕ ПАРКА «ШВЕЙЦАРИЯ», НИЖНИЙ НОВГОРОД)

В. А. Лябина, В. Н. Якимов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
10042002qwe@gmail.com

Важным компонентом городской среды является древесно-кустарниковая растительность, которая предоставляет ряд экосистемных услуг, под которыми понимаются блага, которые люди получают от экосистем. Важным видом экосистемных услуг являются культурные экосистемные услуги, которые не имеют строго материального выражения и оцениваются косвенно путем экспертных оценок, что затрудняет систематический учет и возможности картирования. Решением этой проблемы может стать разработка продвинутых интеллектуальных систем оценки культурных экосистемных услуг на основе методов машинного обучения.

Целью работы являлась разработка и апробация системы автоматизации процесса оценки нематериальных экосистемных услуг на основе фотографий городского парка с применением метода сегментации изображений.

Для оценки трёх экосистемных услуг парка «Швейцария» (Нижний Новгород) было получено 5000 фотографий, выполненных в точках, равномерно распределённых по территории парка. Для автоматизации работы с фотографиями был использован метод семантической сегментации при помощи полной сверточной нейронной сети (FCN-8), который позволяет распознать 150 категорий содержимого и определить долю каждого из компонентов. В дальнейшем для группировки фотографий был применен кластерный анализа методом К-средних. В результате было выделено 4 кластера. На следующем этапе из массива фотографий каждого кластера было выбрано по 10 фотографий, для каждой из которых была проведена экспертная оценка эстетической, рекреационной и социальной экосистемных услуг. Полученные экспертные оценки были использованы для построения обобщенных аддитивных моделей для прогнозирования каждой из трех рассмотренных экосистемных услуг на основе семантической сегментации изображений.

В результате сформирована система оценки нематериальных экосистемных услуг, качество распознавания которых составило 86-89 %. Эта система была использована для оценки экосистемных услуг для всего массива из 5000 фотографий, которые в дальнейшем будут использованы для картирования и анализа экосистемных услуг парка «Швейцария».

SEARCH FOR CONSERVED TARGETS FOR SIRNA-THERAPY IN THE HUMAN ROTAVIRUS TYPE A GENOMES

*A. Makashov*¹, *A. Brodskaya*^{1,2}

¹Peter the Great St. Petersburg polytechnic university, 195251, St. Petersburg, Polytechnicheskaya str., 29;

a.m@biomed.spb.ru

²Smorodintsev research institute of influenza, 197376, St. Petersburg, Prof. Popov str., 15/17

Developing effective vaccines and treatment for viruses of various strains and subtypes relies on search of the conserved regions of viral genes and proteins. In this study we analyzed four rotavirus genes: VP4, VP7, NSP1, and NSP4 as potential targets for RNA interference as an antiviral therapy. Finding conserved gene regions for RNA interference could be a universal solution to counteract multiple virus serotypes. We performed the phylogenetic analysis for these genes. We also performed a comprehensive analysis to find conserved regions that could serve as targets for inhibitory miRNAs.

We examined protein-coding regions of mRNAs and amino acid sequences of genes. A total of 9218 presented in the NCBI GenBank database as of February 2023. Sequences of human rotavirus group A strains circulating from 1974 to 2022 were included in the analysis.

The nonstructural protein genes NSP1 and NSP4 are characterized by low mutation rate. However, we could find the presence of indel polymorphism and small insertions in the reading frame of 6-9 nucleotides for several strains isolated in the United States and Australia in the last decade. Several extended indels have been shown for NSP4, predominantly in South Asia. Strains circulating in India in 2012-2013 are characterized by specific long stable insertions of up to 50 nucleotides, but are not evolutionarily conserved and were not found anywhere else.

Two potential conserved regions in the NSP1 gene that could be targets for antiviral miRNA inhibition were selected: 260-300 and 675-750 (positions in the consensus nucleotide sequence obtained by alignment); and 3 potential conserved regions for NSP4: 160-210, 360-395, 460-490. In the protein-coding region of the VP4 and VP7 genes, it is not possible to find a 20-nucleotide conserved region. The maximum length of the sequence with stable conservatism and optimal GC composition does not exceed 15 nucleotides. Nevertheless, these regions were also identified for further miRNA selection namely 333-352 and 600-650 for VP4 and 548-665 for VP7. Further in these regions were determined target sequences for RNAi. Experimental approbation of RNAi effectiveness is holding on now.

RSF Project No. 22-74-10117.

ВЛИЯНИЕ ВАР И NAA НА РАННИЕ СТАДИИ ОНТОГЕНЕЗА *EULOPHIA STREPTOPETALA IN VITRO*

А. А. Максимов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
maksimovnn@mail.ru

Многие виды семейства *Orchidaceae* относятся к редким растениям из-за сложной биологии и антропогенного влияния. Под угрозой находится и род *Eulophia*. Понимание биологии развития растений и влияющих на неё факторов необходимо для оптимизации методов культивирования *in vitro*. Ещё не до конца понятен уровень воздействия некоторых факторов на различные стадии роста.

Цель исследования – анализ влияния среды Harvaise с добавлением 0,5мг 6-бензиламинопурина (ВАР) и 0,2мг α -нафтилуксусной (NAA) кислоты на прорастание семян и ранние стадии онтогенеза 160-дневных растений *Eulophia streptopetala in vitro*. В среднем размеры зародышей составляли около 230 ± 24 мкм в длину и 150 ± 16 мкм в ширину, в то время как размеры семян вместе с оболочкой были 950 ± 98 мкм в длину и 350 ± 41 мкм в ширину. Первые признаки прорастания обнаружены через 7 недель после посева на обеих средах одновременно.

Процент всхожести семян на среде с добавлением гормонов составил $70.4\% \pm 2.9\%$, что незначительно отличалось от стандартной питательной среды – $68.4\% \pm 3.2\%$. Анализ статистических различий с помощью теста Тьюки не выявил существенных различий между группами ($P < 0,05$).

Индексы роста, рассчитываемые суммой произведений процентов каждой стадии роста на соответствующие коэффициенты, у среды с добавлением ВАР и NAA также существенно не отличались от обычной среды Harvaise и были равны 150 ± 6.7 и $145 \pm 7,3$ соответственно.

Размеры растений, выросших на разных средах, отличались больше, чем на 20% по всем измеряемым параметрам. Образование вторичных протокормов наблюдалось слабо у растений на обеих средах.

Гистологический анализ показал, что образование проводящих тканей и рост апикальной меристемы происходит заметно активнее на среде с добавлением гормонов: разница между меристематической зоной и паренхимой протокорма была более выражена у растений, выращенных на среде с гормонами, что может свидетельствовать о более интенсивном росте и дифференциации клеток в этой области. Кроме того, процент протокормов с большим количеством крахмала был значительно ниже на среде с добавлением гормонов (менее 5%), по сравнению со стандартной средой (24%). Это может указывать на более активное использование запасов энергии в растениях, выращенных на среде с добавлением гормонов, для активного роста и развития.

Добавление цитокининов (ВАР) и ауксинов (NAA) способствует прорастанию семян и дальнейшей дифференцировке, активируя определенные метаболические пути и физиологические процессы в клетках растений. Цитокины, известны своей способностью стимулировать деление клеток, тогда как ауксины, могут регулировать дифференциацию и направленность роста. Следовательно, сочетание этих гормонов в среде может создавать оптимальные условия для активного роста и развития растения.

ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА eIF4E *SOLANUM TUBEROSUM*, НЕСУЩИХ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ФОСФОМИМИЧЕСКИЕ ЗАМЕНЫ В ПОЛОЖЕНИЯХ ПРЕДСКАЗАННЫХ САЙТОВ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

М. Г. Малеев, В. В. Колесникова, О. С. Никонов, Е. Ю. Никонова

Институт белка РАН, 142290, Пушкино Московской обл., ул. Институтская, 4;
maks_gennadevich@inbox.ru

Эукариотический фактор инициации трансляции 4E представляет собой односубъединичный белок массой около 25 kDa, который связывается с 5'-кэп-структурой на мРНК и участвует в формировании eIF4F, необходимого для рекрутирования 43S комплекса. Показано, что eIF4E может подвергаться фосфорилированию, однако до настоящего времени нет однозначного понимания, как это влияет на его структуру и функции. Несмотря на то, что функции eIF4E картофеля активно изучают в контексте борьбы с вирусными заболеваниями, на сегодняшний день отсутствуют данные о регуляции трансляции посредством его фосфорилирования.

Целью данной работы является получение мутантных форм белков семейства eIF4E *Solanum tuberosum* (SteIF4E), несущих аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования.

Нами был проведен анализ структуры модели SteIF4E и поиск возможных сайтов фосфорилирования. В результате была обнаружена аминокислотная последовательность, соответствующая сайту фосфорилирования родственной Snf1 протеинкиназы 1 (SnRK1), расположенная рядом с кэп-узнающей петлей $\beta 3\beta 4$. Избирательное фосфорилирование фактора *in vitro* дает гетерогенный препарат белка. Поэтому нами были внесены точечные нуклеотидные замены в плазмиды, кодирующие изоформы SteIF4E, для получения мутантных форм с фосфомимическими заменами в сайте фосфорилирования SnRK1. Для этих мутантных форм была разработана схема выделения, и белки получены в препаративных количествах.

Результаты: 1) в SteIF4E обнаружен потенциальный сайт фосфорилирования, способный повлиять на функции белка; 2) получены мутантные формы белков семейства SteIF4E, несущие аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования.

РАЗМЕЩЕНИЕ МОРСКИХ ПТИЦ НА ОСТРОВАХ ВЕРШИНЫ КАНДАЛАКШСКОГО ЗАЛИВА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИМИ ЛИТОРАЛИ

С. Малешевич, О. С. Носкова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sonya.malesevic8@mail.ru

Роль птиц в морских экосистемах чрезвычайно высока, но их сообщества одни из самых уязвимых. Для сохранения ключевых местообитаний морских птиц необходимо понимание динамики их численности и характера использования ими отдельных участков литорали при разных условиях, времени суток и сезонах года. Работы в этом направлении проводятся, но в современных быстро меняющихся обстоятельствах их требуется больше.

Наши исследования выполнены в гнездовой период (июль 2022 г.) на побережье Белого моря в устье р. Лувеньга (Кандалакшский заповедник, Мурманская область). Учетами охвачены береговая линия, литораль и водная поверхность на 3-х участках, в пределах которых выделены 3 площадки (сходно по $\sim 70\ 000\ \text{м}^2$). Птиц учитывали с береговой линии методом Корякина А.С. Отмечали вид, число птиц, виды их активности (кормление, отдых и др.). Анализ территориального распределения птиц и аспектов их активности вели с учетом приливо-отливных циклов в диапазоне от 7 ч до малой воды (отлив) до 7 ч после нее (прилив).

Всего отмечено 7000 особей 22 видов птиц из 3 отрядов, 8 семейств. Среди них постоянно встречаются обыкновенная гага *Somateria mollissima*, а также кулик-сорока *Haematopus ostralegus*, сизая *Larus canus* и серебристая чайки *Larus argentatus*, выбранных модельными. Во время приливо-отливных процессов на разных участках при высокой воде может быть 3-7 видов, а при низкой – 10-12.

Рост количества особей птиц на литорали происходит преимущественно за 2 ч до малой воды (отлив) и в течение 2 ч после нее (прилив). При этом птицы перемещаются с одного участка литорали на другой – как это делает кулик-сорока, в целом, не снижая численность. У сизой чайки пики численности отмечены за 2 ч до и через 2 ч после малой воды, а у серебристой – за 4 ч до нее и через 4 ч после. Эти виды распределены на литорали по времени, видимо, избегая конкуренции за пищу.

Выявлено 2 основных фактора, определяющих 79% распределения птиц. При этом климатические факторы сами по себе мало значимы для птиц. Основное воздействие, в основном отрицательное, оказывает на них высокий уровень воды в море. От него зависят и число видов на территории, и число особей 3-х модельных видов, и количество их кормящихся птиц.

Во время отлива общее число птиц разных видов на всех 3-х участках статистически значимо растет – $rS=0.60-0.68$ ед. ($p\text{-level}\leq 0.05$), при этом на 1 и 2 участке этот процесс проходит взаимосвязано. При отливе 1 участок освобождается от воды первым, а в прилив – покрывается последним. Птицы занимают 1 участок сразу же, поскольку здесь корм становится доступным раньше всего. Во время прилива везде отмечено статистически значимое снижение числа птиц – $rS= - 0.76$ ед.

Птицы для питания используют 5 видов корма. В основном это живые организмы (91% – из 4027 собранных объектов питания) – преимущественно макомы *Macoma balthica*, реже мии *Mya arenaria*. Взаимосвязь между интенсивностью использования площадок птицами (по числу их следов) и количеством корма на данном этапе работ не обнаружена. Но на части площадок можно говорить о некоторой тенденции к сходству динамики численности птиц и их кормовых объектов на литорали.

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ КАРОТИНОИДОВ В ТКАНЯХ МОРКОВИ (*DAUCUS SATIVUS* (HOFFM.) RONL.) МЕТОДАМИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

А. С. Мамаева

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
mamaeva577@gmail.com

Каротиноиды – биологически активные вещества (БАВ), производные изопрена, которые традиционно классифицируют на две подгруппы: каротины – углеводородные производные изопрена (ликопин, β -каротин, γ -каротин, δ -каротин, α -каротин и др.) и ксантофиллы – кислородсодержащие производные каротинов (лютеин, зеаксантин и др.). Они обладают различными фармакологическими свойствами, среди которых провитаминная, антиоксидантная, радиопротекторная и антиканцерогенная активности, благотворно влияющие на иммунитет.

Спектрофотометрические методы в ультрафиолетовом (УФ) и видимом диапазоне, которые уже много лет используются для идентификации, чистоты и количественного определения каротиноидов, не потеряли своей актуальности и сегодня. Обычно каротиноиды идентифицируют по положению максимума поглощения света. Полиеновая структура каротиноидов интенсивно поглощает электромагнитное излучение в диапазоне от 400 до 500 нм, что соответствует окраске, присущей этим соединениям, – желтой, оранжевой, красной или их сочетанию.

В ходе проведенного исследования было выбрано 2 сорта моркови: «Детская радость» и «Ромоса». С помощью спектрофотометрического метода определено содержание каротиноидов в тканях моркови при использовании гексана в качестве растворителя.

В результате, при анализе сорта «Детская радость» было обнаружено наибольшее содержание каротиноидов в коре моркови при диапазоне длины волн 440-459 нм и 469-488 нм, составляющее $2,92 \pm 1,97$ и $2,61 \pm 1,77$ соответственно. Наименьшее количество каротиноидов было выявлено в сердцевине моркови в том же диапазоне длин волн, а именно $1,68 \pm 0,72$ и $1,49 \pm 0,64$ соответственно. Лист моркови имел среднее содержание каротиноидов – $1,55 \pm 1,05$ и $1,33 \pm 0,94$.

Анализ сорта «Ромоса» показал, что наибольшее содержание каротиноидов отмечается в листе при диапазоне длины волн 445-459 нм и 473-488 нм, равное $3,09 \pm 2,23$ и $2,70 \pm 2,00$ соответственно. Наименьшее содержание каротиноидов было обнаружено в коре моркови – $2,88 \pm 1,09$ и $2,54 \pm 0,97$. Среднее содержание каротиноидов отмечалось в сердцевине, что составило $3,39 \pm 1,27$ и $3,00 \pm 1,11$.

Сравнивая ткани моркови сорта «Детская радость» и «Ромоса» между собой, можно заключить, что содержание каротиноидов в сердцевине и листе сорта «Ромоса» больше, чем в сорте «Детская радость». Однако в коре сорта «Детская радость» содержание каротиноидов выше, чем в сорте «Ромоса». Таким образом, можно установить следующую последовательность содержания каротиноидов в тканях моркови сорта «Детская радость»: кора > лист > сердцевина. В сорте «Ромоса» порядок содержания каротиноидов будет следующим: лист > сердцевина > кора. Полученные данные дают нам возможность рекомендовать морковь сорта «Ромоса» в качестве дополнительного источника каротинов и витамина А, как сорт в котором количество каротиноидов достоверно выше.

CRA – НОВЫЙ БЕЛОК-АНТИКОАГУЛЯНТ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ
В. А. Манувера^{1,2}, Д. Д. Харлампиева², П. А. Бобровский^{1,2}, Е. Д. Графская², К. А. Бровина^{1,2}, В. Н. Лазарев^{1,2}

¹Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1А;
brovina.ka@phystech.edu

²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю. М. Лопухина, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а

В слюне медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) содержится ряд антикоагулянтов, в том числе до сих пор неизвестных. Обнаружение новых полипептидов с подобными свойствами может расширить перечень лекарств для борьбы с тромбозами, что актуально для практической медицины.

В результате предыдущих исследований было обнаружено несколько последовательностей гипотетических белков, вероятно обладающих способностью ингибировать свертывание крови. На основании их последовательностей получен ряд рекомбинантных белков и исследовано их влияние на гемостаз *in vitro*. Как оказалось, один из исследуемых белков проявляет высокую ингибирующую активность в клинических тестах на коагуляцию. Мы назвали полученный белок CRA (cysteine-rich anticoagulant), так как он содержит большое остатков цистеина – 23 остатка из 162. Самым близким из описанных гомологов CRA является антистазин (ATS) мексиканской пиявки (*Haementeria officinalis*). ATS и CRA демонстрируют характерную картину распределения остатков цистеина, что говорит о возможном сходстве пространственной структуры. Активность полученного нами рекомбинантного белка CRA определяли с помощью прямого анализа ингибирования тромбина и двух стандартных клинических тестов на свертываемость крови: определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и протромбинового времени. В качестве контрольного образца использовался полученный нами рекомбинантный гирудин – классический антикоагулянт слюны пиявок. По данным теста АЧТВ белок CRA эффективнее ингибирует свертывание крови *in vitro*, чем гирудин при одинаковых молярных концентрациях. Однако, исходя из анализа ингибирования тромбина реакция ингибирования, опосредованная гирудином, проходит эффективнее. Из этого можно сделать вывод, что CRA способен прямо ингибировать тромбин, и в то же время, способен ингибировать некоторых других участников каскада свертывания. Поскольку ATS известен как ингибитор фактора свертывания крови Ха, мы решили проверить, способен ли CRA также ингибировать этот фактор. Анализ с использованием специфичного хромогенного субстрата дал отрицательный результат, в то же время клоттинговый тест показал положительный результат и вопрос об ингибировании фактора Ха требует дополнительных исследований.

Результаты исследования были опубликованы в виде статьи в журнале *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2024 г.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (23-25-00006).

РОЛЬ 5-HT₄ РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ МОРФОЛОГИИ НЕЙРОНОВ *IN VITRO****Е. А. Марасанова, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина***

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

marasanova-2000-k@yandex.ru

Депрессия является одной из наиболее распространенных форм психических и поведенческих расстройств. Она имеет гетерогенную природу, а патогенетические механизмы ее развития не изучены в полной мере, однако многочисленные исследования убедительно свидетельствуют о роли серотониновой системы в развитии депрессивных состояний. При депрессии наблюдаются структурные изменения головного мозга, в том числе уменьшение объемов гиппокампа, а также морфологические изменения в нем.

Исследование вклада различных подтипов серотониновых рецепторов в морфогенез нейронов является чрезвычайно актуальным. 5-HT₄Rs представляют собой метаботропные серотониновые рецепторы, активирующие аденилатциклазу. На роль 5-HT₄Rs в расстройствах настроения указывают результаты поведенческих исследований, проведенных на грызунах, а также результаты посмертных исследований жертв суицида, страдавших депрессией.

Целью исследования явилось изучение воздействия стимуляции 5-HT₄Rs на различные аспекты морфологии нейронов в первичных культурах клеток гиппокампа.

В качестве объекта исследования *in vitro* были использованы первичные культуры клеток гиппокампа, полученные из эмбрионов мышей линии C57BL/6 на 18-й день гестации. Стимуляция 5-HT₄Rs проводилась с применением селективного агониста 5-HT₄Rs BIMU8 (Tocris, Великобритания). В случае хронической стимуляции 5-HT₄Rs с 1 дня по 14 день культивирования (DIV) при каждой смене среды вводили BIMU8 в концентрации 100 нМ. В случае острой активации 5-HT₄Rs BIMU8 применяли на 14-й DIV за 60 минут до фиксации культур в концентрации 10 мкМ. Фиксированные культуры подвергались иммуноцитохимическому окрашиванию с использованием следующих первичных антител: mouse anti- β -tubulin (нейрональный маркер), rabbit anti-SR-4 (маркер 5-HT₄Rs); mouse anti-psd95 (маркер постсинаптической мембраны), chicken anti-synapsin (маркер пресинаптической мембраны). Конфокальные изображения были получены с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа Zeiss LSM 800. Анализ полученных изображений был выполнен с использованием открытой программы ImageJ.

Было показано, что хроническая стимуляция 5-HT₄Rs, в отличие от острой стимуляции, приводит к увеличению размеров пресинаптических окончаний, а также к сокращению длины дендритов. Кроме того, хроническая стимуляция приводила к увеличению экспрессии 5-HT₄Rs.

Таким образом, мы показали, что 5-HT₄Rs участвуют в морфогенезе нейронов и синаптических контактов. Полученные данные могут расширить понимание нейробиологических основ депрессии, а также предложить новые мишени в фармакотерапии депрессивных расстройств.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 22-15-00178.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВОДЫ ОЗ. ЛУНСКОЕ (Г. НИЖНИЙ НОВГОРОД) МЕТОДОМ ALLIUM TEST

М. В. Маркина, Н. А. Старцева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mary333222111@mail.ru

В настоящее время для мониторинга экологического состояния водоемов широко используются растительные тест-системы. В частности, биотестирование с применением Allium-теста (тест-объект лук репчатый (*Allium cepa* L.) сорта Штудгартен Ризен) показало его высокую эффективность для оценки токсической и мутагенной активности водных сред. Материалом для исследования послужили пробы воды из пелагиали, литорали и вытяжки из донных отложений (ДО) оз. Лунское (г. Нижний Новгород). В этом гиперэвтрофном водоеме, используемом в рекреационных целях, ежегодно отмечается интенсивное «цветение» воды цианобактериями, способными продуцировать цианотоксины. Кроме токсичных воздействий на органы и системы органов живых организмов, цианотоксины вызывают также и генотоксические эффекты. Этот аспект их действия изучен в меньшей степени, чем токсичность в общем смысле. Поэтому исследование мутагенной активности воды и ДО «цветущего» озера с использованием Allium-теста является актуальным. Пробы отбирали в периоды максимальной концентрации цианотоксинов в биомассе цианобактерий (июнь) и пониженного потенциала самоочищения водоема (сентябрь). Было проанализировано 6 образцов. Оценены митотическая активность (митотический индекс, МИ), частота патологического митоза (ПМ), выявлены типы нарушений митоза в апикальной меристеме корней тест-объекта. Статистическую обработку данных проводили с использованием RStudio.

Уровень митотической активности (МИ) клеток апикальной меристемы корней лука репчатого был достаточно высоким (от 57,4% до 82,6%), однако подавляющее большинство клеток находилось в стадии профазы. Частота нарушений митоза (ПМ) опытных образцов составила от 0,1 до 1,5%. Уровень спонтанного мутирования тест-объекта в контроле (дистиллированная вода) составил 0,57%. Основными нарушениями митоза во всех опытах являлись нарушение веретена деления, реже встречались полиплоидия, наличие фрагментов хромосом или их слипания и отставания. Наибольшее число случаев ПМ наблюдалось в образце ДО за июнь. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что зона отбора проб является значимым фактором при оценке МИ, вне зависимости от времени отбора. Значимым также является взаимодействие факторов. Однофакторный анализ показал достоверность отличия от контроля образцов ДО и образцов из пелагиали, отобранных в июне. Причем образцы из пелагиали обладали заметным митозстимулирующим, а водная вытяжка из ДО – митозингибирующим действием, что указывает на присутствие в ДО литорали данного водоема факторов, обладающих мутагенной активностью. Однако уровень ПМ в исследуемых образцах не превышал 1,5%, что позволяет говорить о том, что исследуемая вода, а также водные вытяжки из ДО оз. Лунское в период исследований не обладали цитогенетическим и генотоксическим эффектами.

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ КРАСИТЕЛИ В ФЕМТОСЕКУНДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ НАНОХИРУРГИИ: ВЛИЯНИЕ НА ПРОЦЕССЫ КЛЕТОЧНОГО СЛИЯНИЯ

Д. Ю. Мартиросян, А. А. Осыченко, А. Д. Залесский, В. А. Нажточенко

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119334,
Москва, ул. Косыгина, 4;
davidoff359@yandex.ru

В настоящее время наблюдается стремительное развитие клеточных технологий, которые рассматриваются как перспективное направление, определяющее будущее медицины. Эти технологии открывают новые перспективы для создания клеточных продуктов, способствующих восстановлению функций тканей и органов человека, а также для применения в области тканевой инженерии. Современные фемтосекундные лазеры успешно применяются и в качестве инструмента исследований. Использование определённых флуоресцентных красителей позволяет снизить энергетический порог ионизации окрашенных клеточных структур при воздействии фемтосекундным лазером. Эта особенность может быть применена в лазерной нанохирургии клеток.

Для проведения экспериментов использовалась установка, описанная ранее в наших работах. В данном исследовании мы применили краситель BioTracker Blue в качестве фотосенсибилизатора для точного контроля абляции цитоплазматической мембраны фемтосекундным лазером и для облегчения слияния клеток, индуцированного лазерным воздействием. Мы выяснили, что BioTracker Blue (366/441) повышает эффективность поглощения лазерного излучения с длиной волны 760 и 730 нм. Тем не менее, увеличение эффективности поглощения, обусловленное использованием BioTracker Blue, не улучшало процесс слияния клеток в модельных системах: парах суспендированных клеток A549, ооцитах и их полярных телец, а также двухклеточных эмбрионах.

В данном исследовании мы обнаружили, что ни наличие красителя, ни изменение длины волны не привели к значительному увеличению вероятности слияния клеток, несмотря на увеличение частоты образования парогазовых пузырей. Следует отметить, что необходимость парогазового пузыря для слияния клеток также зависит от свойств самого объекта. Например, некоторые пары клеток A549 слились даже без образования пузыря, однако двухклеточные эмбрионы не сливались вовсе в отсутствие парогазового пузыря. Наши результаты показывают, что краситель BioTracker Blue способен увеличивать поглощение лазерного излучения, что подтверждается расширением диаметра парогазовых пузырьков и увеличением частоты их образования. Однако, связь между количеством поглощенной энергии и эффективностью слияния клеток до сих пор не до конца ясна, и требует дальнейших исследований. Мы считаем, что оптимизация процесса облучения (включая оптимальные параметры такие как длина волны, частота повторения, энергия импульса, и длительность облучения) а также выбор красителя играют ключевую роль. Концепция использования красителя для регулирования поглощения фемтосекундного излучения может быть применима и в других областях исследований и общий характер.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-75-10155. Работа выполнена на базе ЦКП № 506694 ФИЦ ХФ РАН и УНУ № 1440743.

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИВЕННОЙ И ИНГАЛЯЦИОННОЙ АНЕСТЕЗИИ НА ГОМЕОСТАЗ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Д. М. Марченко^{1, 2}, Е. Р. Михайлова¹, Е. А. Леонова², С. М. Ефремов², Б. А. Маргулис¹, И. В. Гужова¹

¹Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, просп. Тихорецкий, 4;
berbimot@yandex.ru

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9

Онкологические заболевания являются второй по распространенности причиной смертности в мире после сердечно-сосудистых заболеваний. В настоящее время наиболее эффективным методом лечения онкозаболеваний является хирургическое вмешательство. Однако риск опухолевого рецидива после проведения операции до сих пор остается острой проблемой современной онкологии, на развитие которой влияют множество факторов, в том числе препараты для общей анестезии.

Известно, что анестезирующие средства могут оказывать иммуносупрессивное влияние на организм человека. Помимо этого, анестетики также могут влиять на синтез белка HSP70 в опухолевых клетках, высокие уровни продукции которого приводят к активации механизмов, отвечающих за их пролиферативную активность и поддержание гомеостаза, что в дальнейшем может привести к рецидиву онкологических заболеваний.

Мы определили, как пропофол и севофлуран, наиболее широко распространенные средства для внутривенной и ингаляционной анестезии соответственно, влияют на экспрессию гена белка HSP70 в опухолевых клетках, и как в связи с этим меняются их основные характеристики, такие как темп роста, подвижность и способность формирования колоний. Мы определили влияние анестетиков на экспрессию основных генов эпителиально-мезенхимального перехода и аутофагии, активация которых также сопряжена с развитием опухоли. Полученные в ходе работы результаты помогут оценить целесообразность применения дополнительной терапии, направленной на изменение активности HSP70, а также помочь врачам-анестезиологам в выборе наиболее предпочтительного анестетика при хирургическом лечении онкологических больных.

Работа проводится в рамках гранта Российского научного фонда (РНФ) № 23-25-00078.

ВЛИЯНИЕ СУБЛЕТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХЛОРФЕНАПИРА НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ И КАТАЛАЗЫ У *MUSCA DOMESTICA* L.

К. Ю. Маслакова, Е. А. Силиванова

ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, 625041, Тюмень, ул. Институтская, 2;
k.y.maslakova@gmail.com

Формирование устойчивых к инсектицидам популяций насекомых приобретает все большее значение в современном мире. Данная проблема затрагивает множество сфер человеческой деятельности – от здравоохранения до экологической безопасности окружающей среды. Ферменты антиоксидантной системы могут играть значительную роль в устойчивости к инсектицидам. Для насекомых охарактеризован целый ряд таких ферментов. Целью работы стало исследование влияния сублетального воздействия хлорфенапира на активность глутатион-S-трансферазы и каталазы у *M. domestica* L.

Объектом исследования служили особи природной популяции *M. domestica* контрольной и опытной групп. Личинки опытной группы подвергались инсектицидному воздействию сублетальной концентрации хлорфенапира (Пирафен КЭ, д.в. хлорфенапир, 360 г/л) путем их помещения в субстрат с инсектицидом. Активность глутатион-S-трансферазы (GST) и каталазы (CAT) определяли у личинок через 1, 3, 5 суток после помещения в субстрат, а также у куколок, сформировавшихся через 5 и 7 суток. Активность GST определяли с использованием субстрата 1-хлор-2,4-динитробензола (CDNB). За основу определения CAT взят метод Королюка М. А. с молибдатом аммония. Содержание белка определяли по Lowry О. Н.

Статистически значимых различий в активности GST между особями контрольной и опытной групп обнаружено не было. Согласно критерию Данна в контроле выявлено уменьшение активности GST у личинок на 3 и 5 сутки и у куколок на 13-18% ($p < 0,05$), а в опытной группе – на 13-30% ($p < 0,05$) по сравнению с первыми сутками после воздействия. Не обнаружено статистически значимого изменения активности CAT у личинок и куколок контрольной и опытной групп по сравнению с первыми сутками после инсектицидного воздействия.

Таким образом, помещение личинок в субстрат, обработанный выбранной сублетальной концентрацией хлорфенапира, не оказало влияния на активность глутатион-S-трансферазы и каталазы у личинок и куколок *M. domestica*.

Работа выполнена Всероссийским научно-исследовательским институтом ветеринарной энтомологии и арахнологии ТюмНЦ СО РАН в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FWRZ-2022-0022).

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ КИПРЕЯ УЗКОЛИСТНОГО

И. Б. Матюкова

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
matyukova.ira@yandex.ru

Одним из числовых показателей, определяющих качество лекарственного растительного сырья является содержание экстрактивных веществ, представляющих собой сумму соединений, извлекаемых тем или иным экстрагентом.

Целью нашей работы является количественное определение содержания экстрактивных веществ в ферментированных листьях кипрея узколистного (*Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.).

Сбор листьев кипрея узколистного проводился в 2023 году в Республике Марий Эл в г. Йошкар-Ола, на опушке липового леса в Медведевском районе, в период его цветения. Перед ферментацией сырье подготавливали разными способами: спрессовывали, измельчали при помощи бытовой мясорубки и замораживали в течение суток при температуре -18°C , а также в качестве контроля использовали цельные листья, которые не были подвергнуты какому-либо воздействию. Далее листья ферментировались до появления бурого цвета и характерного фруктового запаха. После этого листья высушивали в дегидрататоре при температуре $+50^{\circ}\text{C}$. Содержание экстрактивных веществ в листьях кипрея узколистного определяли гравиметрическим методом после однократной, двухкратной и последовательной экстракции. В качестве экстрагента использовали воду подготовленную, при последовательной экстракции воду подготовленную и 70-ти-% этиловый спирт. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета данных Microsoft Excel 2007.

При однократной экстракции больше всего экстрактивных веществ содержалось в цельных листьях (контроль) – $23,9 \pm 0,21\%$ и давленных – $23,5 \pm 0,39\%$, а меньше – в замороженных – $22,9 \pm 0,71\%$ и в крученых – $21,4 \pm 0,34\%$. При многократной экстракции больше всего экстрактивных веществ содержалось в цельных (контроль) листьях – $34,1 \pm 0,78\%$ и в замороженных – $33,5 \pm 0,80\%$, а меньше в давленных – $30,79 \pm 0,80\%$ и крученых – $30,1 \pm 0,72\%$. При последовательной экстракции больше экстрактивных веществ содержалось в цельных листьях (контроль) – $23,6 \pm 0,42\%$ и в крученых – $21,9 \pm 0,69\%$, а меньше – в замороженных ($21,2 \pm 0,36\%$) и в давленных ($20,5 \pm 0,18\%$).

Таким образом в неферментированных листьях кипрея узколистного содержание экстрактивных веществ выше, чем в ферментированных и больше при двукратной экстракции, чем при однократной и последовательной. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что содержание экстрактивных веществ в листьях *Ch. angustifolium* зависит от способа подготовки к ферментации ($P = 2,4 \cdot 10^{-6}$), метода экстракции ($P = 3,97 \cdot 10^{-30}$), а также имеется взаимодействие факторов ($P = 0,0019$).

ИНГИБИРОВАНИЕ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА)-ПОЛИМЕРАЗЫ ПРЕДОТВРАЩАЕТ ГИБЕЛЬ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ H9c2, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИЕЙ

А. А. Матюхин¹, Д. И. Салихова², С. И. Шрам¹

¹НИЦ «Курчатовский институт», 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1;
alexmatuchin-2011@mail.ru

²Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Развитие диабетической кардиомиопатии сопровождается окислительным стрессом, гибелью кардиомиоцитов и необратимой гипертрофией миокарда. Роль в этих процессах ферментов поли(АДФ-рибоза)-полимераз (ПАРП), вовлеченных в различные стресс-индуцируемые клеточные реакции, пока еще недостаточно изучена. Целью данной работы было разработать корректный метод количественного анализа степени гипертрофии кардиомиоцитов и изучить влияние антиоксиданта N-ацетил-цистеина (НАС), и ингибитора ПАРП-1/2 (PJ34) на гибель и гипертрофию клеток, вызываемые хронической гипергликемией.

Исследования проводились на культурах дифференцированных (кардиомиоциты) и недифференцированных (кардиомиобласты) клеток H9c2. Хроническую гипергликемию вызывали увеличением в среде концентрации D-глюкозы с 5 мМ (нормогликемия) до 30 мМ. В качестве контроля использовали культуры, которые росли в среде с 5 мМ D-глюкозы и 25 мМ D-маннитола. Для анализа гипертрофии использовали следующие показатели: 1) уровень экспрессии генов-маркеров гипертрофии (метод RT-PCR); 2) диаметр клетки и ядра суспендированных клеток, окрашенных красителями Кальцеином АМ и Йодидом пропидия (метод проточной цитофлуорометрии) и 3) площадь сечения x-y адгезированных клеток, окрашенных красителем Кальцеин АМ (метод флуоресцентной микроскопии).

Было показано, что культивирование клеток H9c2 в течении 7 сут в условиях гипергликемии приводит к гибели клеток, усилению экспрессии маркерных генов – *Muh 7* и *Npra*, и увеличению геометрических размеров клетки и ядра (диаметр, площадь сечения x-y). Внесение в среду культивирования PJ34 (2 мкМ), приводило к полному предотвращению вызываемых гипергликемией гибели и гипертрофии клеток. В тоже время НАС (1 мМ) оказывал менее выраженное положительное действие на эти показатели, что может указывать на наличие альтернативных, не связанных с окислительным стрессом, путей вовлечения ПАРП-1/2 в механизмы гипертрофии кардиомиоцитов. В работе также предложены новые методы анализа геометрических размеров клетки, которые могут быть успешно применены для поиска фармакологических веществ с антигипертрофическим действием на кардиомиоциты.

Исследования проведены в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНАКТИВАЦИИ НОВОГО ГЕНА СОРП-СВЯЗАННОГО БЕЛКА НА ПРОЦЕССЫ КОРТИКОГЕНЕЗА

А. Д. Медяник¹, А. О. Кустова¹, Р. Маруфиан², В. С. Тарабыкин³, Е. В. Кондакова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
al.medyanik111@gmail.com

²Институт неврологии Университетского колледжа Лондона, WC1E 6BT, Лондон,
Великобритания, Гауэр-стрит

³Институт клеточной биологии и нейробиологии Университетского медицинского комплекса Шарите, 10117, Берлин, Германия, ул. Шаритеплац, 1

Одной из разновидностей генетически опосредованных эпилепсий являются эпилептические энцефалопатии. Эта группа заболеваний характеризуется эпилептическими приступами, межприступной эпилептиформной активностью, выраженной задержкой или регрессией психомоторного развития и когнитивным дефицитом. В настоящее время диагностика и лечение данных заболеваний оказываются затруднены из-за их гетерогенности и фармакорезистентности к противосудорожной терапии. Клинические случаи эпилептических энцефалопатий связывают с пороками развития коры головного мозга, которые наиболее часто вызваны нарушениями пролиферации, дифференциации и миграции нейронов.

Ограниченные клинические данные ассоциируют подобные патологии с мутациями в новом гене СОРП-связанного белка, функции которого на сегодняшний день крайне мало изучены. Предполагается, что продукты этого гена являются мембранными белками, участвующими в транспорте везикул из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи.

Целью данной работы явилось исследование эффектов инактивации выбранного гена на процессы кортикогенеза.

Инактивация исследуемого гена в кортикальных предшественниках *in vivo* была проведена методом внутриутробной электропорации на эмбрионах мышей инбредной линии С3Н на 13,5 день гестации.

В боковые желудочки головного мозга мышей были инъецированы векторные плазмиды: контрольная экспрессировала shRNA-Scramble с неспецифической последовательностью, а опытная – shRNA против мРНК исследуемого гена. Для визуализации электропорированных нейронов и их отростков были добавлены плазмиды с кДНК GFP и Venus. После инъекции эмбрионы развивались до срока E17.5, после чего было произведено выделение и фиксация ткани для анализа. Подготовленные образцы были использованы для получения фронтальных гистологических срезов коры головного мозга, которые окрашивали иммуногистохимическим методом с использованием антител к GFP, а также DAPI для окрашивания ядер клеток.

В норме на стадии E17.5 нейроны неокортекса должны мигрировать в кортикальную пластинку, что и наблюдается у контрольной группы, в которой клетки успешно достигли верхних слоев коры. В то же время у опытной группы, в которой была выполнена инактивация гена, наблюдается скопление тел нейронов в вентрикулярной, субвентрикулярной и интермедиальной зонах, что аномально для данной стадии развития.

Полученные результаты указывают на тенденцию к задержке миграции кортикальных предшественников после инактивации исследуемого гена СОРП-связанного белка. В связи с этим можно предположить, что функции данного гена связаны с процессами, влияющими на нормальный ход нейрогенеза.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FSWR-2023-0029).

ОЦЕНКА БАКТЕРИЦИДНОГО ЭФФЕКТА РАСТВОРОВ, ОБРАБОТАННЫХ ИЗЛУЧЕНИЕМ ПЛАЗМЫ РАЗРЯДА И УФ ИЗЛУЧЕНИЕМ

О. Ю. Меженина, И. П. Иванова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Mejenina.olya@yandex.ru

В настоящее время широко исследуются возможности использования газоразрядной плазмы для стерилизации поверхностей из материалов, которые не могут подвергаться температурной или жесткой химической обработке, а также для уменьшения обсемененности живых тканей. Установлен бактерицидный эффект, создаваемый искровым электрическим разрядом на воздухе, в водных растворах, не контактирующих с плазмой. Ранее оценка бактерицидного эффекта излучения горячей плазмы проводилась по жизнеспособности грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* 140М. Было выявлено, что воздействие излучения плазмы в течение 120 секунд и более является летальной дозой для клеток *S. aureus* 140 М.

Цель представленной работы – изучение бактерицидных свойств дистиллированной воды и физиологического раствора, обработанных ультрафиолетовым излучением и излучением газоразрядной плазмы.

С помощью спектрофотометра в стерильных растворах (дистиллированная вода и физиологический раствор) готовили разведения суточных культур грамотрицательных (*Leminorella richardii*) и грамположительных (*S. aureus* 140М) бактерий. Стерильные растворы аликвотами по 4 мл обрабатывали генератором плазмы искрового разряда ИР-10 (Пилимин) и УФ-излучением (УФ лампа) в течение 2, 5, 10, 20 минут. В обработанные ИР-10 и УФ растворы добавляли взвеси бактерий в соотношении 1:1. Производили посев 30 мкл каждого образца на элективные среды, разлитые в стандартные чашки Петри. Посев производился в 3 повторностях. Чашки Петри инкубировали в термостате при 37°C в течение 24 часов. По истечении суток производили подсчет жизнеспособных клеток и вычисляли количество колониеобразующих единиц в миллилитре (КОЕ/мл).

При оценке бактерицидного эффекта обработанных излучением газоразрядной плазмы растворов (физиологического раствора и дистиллированной воды) было выявлено, что инкубация взвеси бактериальных клеток как грамположительных, так и грамотрицательных с растворами, активированными в течение 5 минут плазмой, обеспечивает 100% бактерицидный эффект. Максимальная концентрация бактериальных клеток, для которой проявлялся 100% бактерицидный эффект обработанного излучением плазмы физиологического раствора, составила 30 666 кл/мл для *S. aureus* 140М и 19 000 кл/мл для *L. richardii*. Максимальная концентрация бактериальных клеток, для которой проявлялся 100% бактерицидный эффект обработанной ИР-10 дистиллированной воды, составила 23 100 кл/мл для *S. aureus* 140М и 11 633 кл/мл для *L. richardii*. Растворы, обработанные ультрафиолетовым излучением, не оказывали бактерицидного действия на изученные штаммы бактерий.

Таким образом, обработанные излучением газоразрядной плазмы растворы проявляют выраженный бактерицидный эффект, что может быть перспективным для стерилизации поверхностей и уменьшения обсемененности живых тканей.

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЗАСУХИ НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ

М. Н. Мелузов, В. А. Клепиков, Ю. В. Ракова, Ю. В. Сеницына, Н. С. Мишенская
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mmmeluzov@gmail.com

Геомагнитное поле представляет собой неотъемлемую часть окружающей среды на Земле, непрерывно влияя на живые системы. Однако эффекты слабых низкочастотных магнитных полей, которые воздействуют на живые организмы, включая растения, до сих пор не выяснены. Есть сведения, что воздействие данного фактора несёт сигнальную функцию для растений, помогая им адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды, в частности, к засухе, тем самым осуществляя протекторное действие, позволяя организмам легче переносить действие неблагоприятного фактора. Известно, что в полости между поверхностью Земли и ионосферой существуют электромагнитные волны, известные как резонанс Шумана, способный существовать в течение продолжительного времени и, следовательно, оказывать воздействие на растения. Показано, что растения наиболее восприимчивы к одной из гармоник резонанса Шумана частотой 14.3 Гц. Целью данного исследования являлось изучение влияния переменного магнитного поля на устойчивость растений к засухе.

Объектами исследования являлись растения пшеницы мягкой яровой. Опытная группа обрабатывалась магнитным полем с частотой 14,3 Гц (магнитная индукция 18 мкТл). Контрольная группа помещалась в аналогичные условия, но без воздействия магнитного поля. До достижения возраста 14 дней растения опытной группы обрабатывались только магнитным полем, с 14 по 22 день в контрольной и опытной группе часть растений подвергалась засухе, с 22 дня по 30 происходило восстановление полива всех растений и сохранение действия поля в опытной группе. На 14, 22 и 30 день культивирования оценивалась устойчивость растений к засухе по активности каталазы, содержанию пролина и малонового диальдегида (МДА).

Было обнаружено увеличение содержания МДА у растений, подвергнутых засухе на 31% относительно контроля. Под влиянием магнитного поля уровень МДА снижался, в том числе, и при одновременном действии засухи. Значимых изменений активности каталазы не выявлено. Содержание пролина выросло в 9 раз у растений, подвергнутых засухе, магнитное поле на фоне засухи вызвало дополнительное увеличение его содержания в 1.7 раз. Таким образом, магнитное поле оказывало на растения защитный эффект при действии засухи, снижая концентрацию малонового диальдегида – одного из продуктов перекисного окисления липидов, и повышая содержание пролина – важнейшего осмолита в тканях растений.

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ИЗОЛЯТА *DELFTIA MR-6/3H*, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЫРОГО КОРОВЬЕГО МОЛОКА

А. Н. Меньшикова^{1,2}, П. А. Андриянов^{1,2}, Е. А. Климентьева^{1,2}, Д. Д. Кашина^{1,2}, А. И. Тютрина^{1,2}

¹ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3;
alena.menshikova.2013@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Delftia tsuruhatensis (*Dt*) – граммотрицательная аэробная бактерия, известная как микроорганизм, разлагающий органические загрязнители и способствующий росту растений. Однако *Dt* также известна как новый патоген человека. На сегодняшний день известны случаи инфекции у иммунокомпрометированных лиц, вызываемые этой бактерией. *Dt* может вызывать тяжелые внутрибольничные инфекции, проявляющиеся пневмонией и инфекциями кровотока. Многие штаммы *Dt* имеют мультирезистентный фенотип.

Цель данной работы – микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолята MR-6/3H.

Объектом исследования являлся изолят *Delftia MR-6/3H*, выделенный из пробы сырого коровьего молока в феврале 2022 года.

Исследование включало идентификацию изолята, культурально-морфологическое описание, оценку чувствительности к антибиотикам, а также геномный анализ.

Для описания культурально-морфологических свойств был произведен посев культуры на 5% кровяной агар. Исследуемый изолят имел типичный граммотрицательный морфотип, клетки палочковидной формы; колонии точечные, молочного цвета, обнаружен гамма-гемолиз. Оценка спектра чувствительности к антибиотикам была проведена с помощью диско-диффузионного метода. Фенотип изолята MR-6/3H был расценен как мультирезистентный.

Для идентификации был использован метод секвенирования гена 16S рРНК, с помощью которого удалось установить принадлежность изолята к роду *Delftia*. Для уточнения видовой принадлежности были использованы геномные подходы.

Сборка генома *Delftia MR-6/3H* содержала 52 контига общей длиной 6,46 млн п.н. и содержанием GC 66,7%. Было обнаружено 6115 открытых рамок считывания и идентифицировано 4619 белков с функциональными назначениями.

Дальнейшая идентификация была проведена с помощью филогеномного анализа. Была построена кладограмма на основе средненуклеотидной идентичности. Штамм *Delftia MR-6/3H* вместе с *Dt* образовывал отдельную кладу. Это позволяет предположить, что *Delftia MR-6/3H* принадлежит к виду *Dt*.

Поиск факторов устойчивости к антибиотикам и факторов патогенности был проведен у 11 штаммов *Delftia spp.* (GenBank), включая штамм *Delftia MR-6/3H*. Был найден 31 гомолог генов устойчивости к антибиотикам, а также 47 гомологов факторов патогенности. Все обнаруженные гомологи были сгруппированы в подгруппы по механизму действия. Анализ интегронов показал наличие мобильных генетических элементов только у трех штаммов, однако полноценный интегрон класса I был обнаружен только у *Dt TR1180*.

Таким образом, сырое молоко может быть источником *Dt*, имеющей мультирезистентный фенотип. Учитывая факт повсеместного распространения, высокую экологическую пластичность, наличие некоторых факторов вирулентности и детерминант резистентности, *Dt* может оказаться весьма успешной в качестве нового нозокомиального патогена.

МИКРОВЯЗКОСТЬ МЕМБРАН КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ЧЕЛОВЕКА ПРИ РАЗНОЙ МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ

В. А. Метлина¹, Л. Е. Шимолина², М. К. Куимова³, А. М. Можеров², М. В. Ширманова²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
metlina.vikt@gmail.com

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Имперский колледж Лондона, SW7 2AZ, Лондон, Великобритания, Принс-Консорт-роуд

Микровязкость цитоплазматической мембраны играет важную роль в функционировании живых клеток. Изменения этого параметра в нормальных клетках могут быть связаны с опухолевой трансформацией, а в опухолевых свидетельствовать о развитии резистентности к химиотерапии. В настоящее время одним из наиболее перспективных методов измерения микровязкости является время-разрешенная флуоресцентная микроскопия FLIM с использованием молекулярных роторов.

Исследование выполнялось с целью изучения микровязкости цитоплазматических мембран опухолевых клеток колоректального рака с различным миграционным потенциалом с использованием FLIM микроскопии и молекулярного ротора BODIPY2.

В качестве объектов исследования использовались клеточные линии колоректального рака человека: CaCo-2, HT29, HCT116, SW837, SW480, сублинии HCT116 и HT29 химиорезистентные по отношению к 5-фторурацилу и оксалиплатину HCT116_5FUR, HCT116_OXAR, HT29_5FUR, HT29_OXAR. Культивация клеточных линий осуществлялась по стандартной методике в полной ростовой среде. Для визуализации микровязкости использовался флуоресцентный молекулярный ротор BODIPY2 в дозе 4.5 мкМ. Работа выполнялась с использованием лазерного сканирующего микроскопа LSM 880, оснащенного модулем FLIM SPC 150 TCSPC и фемтосекундным лазером MaiTai HP, 80 МГц, 140 фс.

В результате проведенного исследования было установлено, что клеточная линия SW480 имеет наибольшее значение микровязкости мембран – 495 ± 45 сП. Мембраны клеточных линий HCT116 и SW 480 оказались более текучими – 456 ± 33 сП и 457 ± 27 сП соответственно. Самые текучие мембраны обнаружены у клеточной линии HT29, где значение микровязкости составило 427 ± 30 сП. Было установлено, что значения микровязкости мембран для резистентных к 5-фторурацилу клеточных сублиний практически не отличалось от чувствительного аналога. У клеточных линий, резистентных к оксалиплатину, выявлена иная тенденция, зарегистрированные значения микровязкости оказались ниже в сравнении с чувствительными аналогами – для HCT116_OXAR микровязкость составила 319 ± 12 сП, для HT29_OXAR – 294 ± 14 сП.

Полученные данные указывают на вовлеченность микровязкости мембраны в миграционную активность опухолевых клеток, данные могут быть использованы при оценке ответа опухоли на химиотерапию, а также раннем выявлении химиорезистентности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 23-74-00045).

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА
ТЕТРАКИС(4-БЕНЗИЛОКСИФЕНИЛ)-ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO* НА ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯХ ЛИНИИ
C57BL/6-TG (UBC-GFP)**

Д. Р. Минцев¹, А. Б. Воловецкий², М. Н. Азеева¹, Л. Н. Шестакова^{1,3}, И. В. Балалаева¹, Л. Г. Клапшина³, Н. Ю. Шильгина¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
daniilmintsev2015@mail.ru

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

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

Лечебное действие фотодинамической терапии (ФДТ) – основано на локальной активации светом накопившегося в сосудах или тканях опухоли фотосенсибилизатора (ФС), приводя к развитию фотохимических реакций и разрушению опухолевых клеток. Определение фармакокинетических параметров ФС позволяет обосновать выбор путей и методов введения ФС, а также сделать прогноз эффективности ФС и оптимизировать выбор его лекарственной формы.

Цель работы – анализ фармакокинетических параметров тетра-(4-бензилоксифенил)-тетрацианопорфиразина в эксперименте на животных-опухоленосителях.

Исследование проводили на трансгенных мышах линии C57BL/6-Tg (UBC-GFP), экспрессирующей зелёный флуоресцентный белок GFP в эндотелиоцитах. Для получения экспериментальных опухолей использовали линию мышшиной карциномы толстого кишечника СТ-26, прививаемую подкожно. Для проведения интравитальной флуоресцентной микроскопии животных-опухоленосителей, наркотизировали и затем освобождали область опухоли от кожного лоскута. Животное фиксировали на предметном столике микроскопа и подвели к нему объектив микроскопа. Далее регистрировали флуоресцентные изображения опухолевой ткани до инъекции порфиразина и после с интервалом в 10 секунд. С использованием программы ImageJ по полученным изображениям определяли уровень сигнала флуоресценции ФС в сосудах и тканях опухоли.

Нами было показано, что накопление порфиразина в сосудах опухоли наблюдается уже через 1-1,5 минуты после его внутривенного введения. Максимум накопления в сосудах регистрируется примерно через 3,5 минуты после введения, далее уровень сигнала флуоресценции ФС, регистрируемый в сосудах опухоли, начинает снижаться. Накопление порфиразина в опухолевой ткани происходит через 2-3 минуты и далее сигнал продолжает расти в течение 30 минут после введения.

Таким образом, мы оценили в режиме реального времени динамику перераспределения порфиразина между сосудами и клетками опухолевой ткани. Наши дальнейшие исследования будут направлены на оценку влияния носителя ФС на его фармакокинетические свойства.

Работа выполнена в рамках проекта «Центр фотоники» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022-293.

ВЛИЯНИЕ БЕСКЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ *S. AUREUS* НА СТРУКТУРУ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БИОПЛЕНОК *K. PNEUMONIAE* И *P. AERUGINOSA*

А. В. Миронова, М. С. Федорова, Н. Д. Закарова, Е. Ю. Тризна, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
amironova2019@mail.ru

В последнее время появляется все больше данных, подтверждающих, что многие инфекции ассоциированы с образованием полимикробных биопленок, в которых отмечается изменение проницаемости внеклеточного матрикса, а также изменение чувствительности бактерий к антибиотикам, по сравнению с монокультурами.

Целью работы было оценить влияние бесклеточной культуральной жидкости *Staphylococcus aureus* на биохимический состав и структуру биопленок *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Внесение бесклеточной культуральной жидкости (БКЖ) *S. aureus* к моновидовым биопленкам *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* увеличивает содержание α -, β -полисахаридов и белков в матриксе до 2 раз. При этом, в контрольных лунках α -полисахариды располагаются равномерно, в то время как в лунках, обработанных БКЖ *S. aureus*, этот компонент визуализируется в виде отдельных скоплений, плотных по своей структуре. Увеличение полисахаридного компонента также подтверждается значительным повышением уровня экспрессии генов *pgaA* *K. pneumoniae* и *pelA*, *pslA* *P. aeruginosa* в присутствии культуральной жидкости *S. aureus*.

Таким образом, внесение бесклеточной культуральной жидкости золотистого стафилококка способствует увеличению белков и полисахаридов в составе матрикса биопленок *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* и приводит к изменению структуры биопленки. Подобные изменения могут обеспечить повышенную или напротив пониженную проницаемость биопленки для противомикробных препаратов, что необходимо учитывать при разработке подходов терапии инфекций, ассоциированных с образованием биопленок *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №20-64-47014).

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЫ КРЫСЫ В РАЗНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ

М. К. Мирошниченко

Южный федеральный университет, 344006, Ростов-на-Дону, ул. Большая Садовая, 105/42;
miroshnichenko_marin@mail.ru

Современный уровень технологических решений в области нейрофизиологии в совокупности с прорывными решениями в методологии математической обработки информации, основанной на архитектуре нейросетевых классификаторов, позволяет создавать биогбридные системы. В таких системах в качестве сенсоров используются животные, функциональное состояние которых меняется в цикле бодрствование-сон, что приводит к искажению информативных признаков, регистрируемых с животного и затрудняет применение нейросетевых классификаторов.

Предметом данного исследования является изучение нейрональной активности митральных и тафтовых нейронов (М\Т) обонятельной луковицы крысы в разных функциональных состояниях. Была проведена серия экспериментов по регистрации активности М\Т нейронов, биоэлектрической активности (БА) обонятельной луковицы и коры больших полушарий мозга у крыс в свободном поведении ($n = 5$).

Средний уровень значений активности М\Т нейронов ОЛ крысы в спокойном бодрствовании соответствовал $36,1 \pm 2,0$ (имп/сек), для медленноволновой фазы сна (МС) – $30,1 \pm 0,8$ (имп/сек) и для парадоксальной фазы сна (ПС) – $30,7 \pm 1,5$ (имп/сек). В первые 30 секунд перехода из состояния спокойного бодрствования в МС наблюдается статистически значимое снижение активности М\Т нейронов: с $32,9 \pm 3,2$ (имп/сек) до $28,3 \text{ Гц} \pm 0,9$ (имп/сек) (Т-тест, $p < 0,05$). После данного периода наблюдается незначительное повышение с флуктуациями средних значений нейрональной активности М\Т клеток, достигающие статистически значимых различий на уровне тренда (Т-тест, $0,05 > p < 0,08$). Изменение ведущей частоты гамма активности БА во время развития МС в целом коррелировала с изменением активности М\Т клеток. Максимальное значение соответствовало $74,4 \pm 2,4 \text{ Гц}$, минимальное – $66,2 \pm 1,1 \text{ Гц}$. По мере развития ПС наблюдается снижение среднего значения активности М\Т нейронов ОЛ. Максимальные значения импульсной активности приходятся на первую 5-секундную эпоху анализа развития ПС и составляют $34,9 \pm 1,96$ (имп/сек), а минимальное значение наблюдается на 4 минуте ПС и составляет $22,8 \pm 3$ (имп/сек).

Таким образом, нами было показано, что уровень фоновой активности М\Т нейронов зависит от функционального состояния и наблюдается высокая степень корреляции между нейрональной активностью и доминирующей гамма-активностью, что отражает как функциональные перестройки на клеточном уровне, так и на уровне отдельных функциональных единиц (гломерулы) в ОЛ.

НУТРИЦИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Д. В. Михайлова, Н. В. Земская, М. В. Шапошников, Н. С. Уляшева, Н. Р. Пакина, Е. Ю. Платонова, Л. А. Коваль, Е. В. Щеголева, Д. А. Голубев, А. А. Москалев

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28;
darya.kukuman@mail.ru

Питание является основой жизни, одним из главных факторов, определяющим здоровье, долголетие и работоспособность организма. При любых нарушениях питания резко снижается устойчивость организма к неблагоприятным воздействиям окружающей среды, стрессам, повышенным умственным и физическим нагрузкам. Включение в наш рацион цельнозерновых хлебных злаков, которые богаты клетчаткой и фитонутриентами, способствует здоровому пищеварению и снижают риск возникновения различных хронических заболеваний. *Drosophila melanogaster* все чаще используется в качестве модели в исследованиях питания.

В данной работе, на модели *D. melanogaster* был проведен нутрициологический скрининг геропротекторных свойств диет на основе 154 образцов из разных хлебных злаков в условиях повышенной температуры содержания (29°C). Образцы для нутрициологического скрининга были получены с делянки № 2022 Дагестанской опытной станции Федерального исследовательского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (Дербент, Россия).

В результате скрининга было выявлено 9 хлебных злаков, диета на основе которых положительно влияла на выживаемость дрозофил и обладающих высоким геропротекторным потенциалом в условиях эксперимента и 2 диеты в качестве контроля. К ним относятся диеты на основе следующих хлебных злаков: АМА (*T. durum*), Васса (*T. aestivum*), 7009 (*T. persicum* var. *stramineum*), 7013 (*T. aethiopicum* var. *uncinatum*), 7021 (*T. polonicum* var. *caryopsi rubrum*), 7024 (*T. turanicum* var. *insigne, notabile*), 7044 (*T. sphaerococcum* var. *tumidum*), 7052 (*T. monococcum* var. *flavescens*), 7055 (*T. monococcum* var. *vulgare*) (увеличение продолжительности жизни, экспериментальные образцы).

Далее мы провели комплексный анализ влияния выбранных диет, на продолжительность жизни, стрессоустойчивость и локомоторную активность. Полученные результаты свидетельствуют, что модулирование качественного состава диеты на основе хлебных злаков ведут к существенным изменениям физиологического состояния модельного организма *D. melanogaster* и изменению такого интегрального показателя как продолжительность жизни.

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

МИКРОННЫЕ И СУБМИКРОННЫЕ ЧАСТИЦЫ КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ КАК НОСИТЕЛИ ДЛЯ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

А. В. Михеев¹, Е. В. Попова², О. А. Безнос³, О. А. Кост², Т. Н. Паллаева¹, Т. В. Букреева¹, Д. Б. Трушина^{1,4}

¹НИЦ «Курчатовский институт» Курчатовский Комплекс «Кристаллография и Фотоника» (КККиФ), Москва, 119333, Ленинский проспект, 59;

mikheev.av16@physics.msu.ru

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

³Институт глазных болезней Гельмгольца, 105062, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19

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

Глаукома – прогрессирующее заболевание глаз, характеризующееся повышением внутриглазного давления (ВГД) с последующим повреждением зрительного нерва и, как следствие, потерей зрения. Для лечения глаукомы требуется постоянное введение лекарственных средств, одним из которых является эналаприлат, способствующий снижению ВГД. 90% продаваемых офтальмологических препаратов выпускаются в форме глазных капель, которые представляют собой простой способ введения, однако основные проблемы данного способа заключаются в низкой биодоступности веществ, связанной со сложной физиологией и структурой глаза. Это приводит к необходимости создания лекарственных форм, которые увеличивают биодоступность, обеспечивают пролонгированное высвобождение лекарственного средства и снижают частоту введения.

Благодаря возможности инкапсулировать широкий спектр препаратов за счет высокой пористости и способности в течение длительных промежутков времени поддерживать высокую концентрацию действующего вещества в заданном месте многообещающим материалом для окулярной доставки эналаприлата являются поликристаллические частицы ватерита – полиморфной модификации карбоната кальция CaCO_3 .

В рамках данной работы были синтезированы и охарактеризованы рядом физико-химических методов частицы карбоната диаметром $3,8 \pm 0,5$ мкм и 567 ± 161 нм. Методом порошковой рентгеновской дифракции показано, что при синтезе карбоната кальция методом массовой кристаллизации преимущественно образуется фаза ватерита: соотношение фаз ватерит/кальцит в образцах составило 96,2%/3,8% и 87,8%/12,2% для микронных и субмикронных частиц, соответственно. Для определения проникновения частиц в переднюю камера глаза частицы были загружены бычьим сывороточным альбумином, меченым флуоресцеин-5-изотиоцианатом (ФИТЦ-БСА). С помощью метода флуоресцентной спектроскопии показано, что при закапывании суспензии частиц обоих типов в глаза кроликов происходит их закрепление на склере и роговице. Методом заморозки растворителя образцы были загружены эналаприлатом. Весовой процент загрузки составил $4,7 \pm 2,1\%$ и $5,2 \pm 1,5\%$ для микронных и субмикронных частиц, соответственно. Показано, что высвобождение эналаприлата *in vitro* для обоих типов частиц происходит одинаково.

Продемонстрировано, что через 3 часа после закапывания нативного раствора эналаприлата снижение ВГД составило $-2,3 \pm 0,4$ мм.рт.ст. При закапывании микронных и субмикронных частиц ватерита, загруженных эналаприлатом, ВГД снижается на $2,1 \pm 0,5$ и $3,4 \pm 0,2$ мм.рт.ст., соответственно, т.е. более выраженное действие препарата происходит при использовании субмикронных частиц. Таким образом, в результате работы показано, что применение частиц карбоната кальция позволяет добиться более выраженного эффекта препарата и обеспечить длительное высвобождение за счет закрепления частиц на поверхности глаза.

Работа в части синтеза и характеристики карбоната кальция была выполнена при финансовой поддержке РФФ (№ 21-74-10058).

ВЛИЯНИЕ МИКОСИМБИОНТОВ *PHIALOCEPHALA FORTINII* И *OIDIODENDRON MAIUS* НА РАСТЕНИЯ *VACCINIUM MACROCARPON* AIT. ПРИ ИХ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ В УСЛОВИЯХ *EX VITRO*

В. С. Михеев¹, Е. С. Приписнова¹, Д. В. Каденкова¹, А. А. Брилкина¹, Е. В. Березина¹, И. В. Стручкова¹, М. Н. Агеева²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
viciousss@yandex.ru

²ООО «Микофит», 606440, Бор Нижегородской обл., ул. Интернациональная, 56Б

Растения рода *Vaccinium* L. в естественных условиях формируют обязательный симбиоз с микроскопическими грибами. Микосимбионты могут влиять на разные аспекты метаболизма растения-хозяина, например, усиливая водное и минеральное питание, изменяя интенсивность синтеза вторичных веществ, улучшая питание и устойчивость растений, что особенно важно при культивировании хозяйственно-ценных видов вересковых растений.

Целью работы было выявление влияния темного септированного эндофита *Phialocephala fortinii* и гриба эрикоидной микоризы *Oidiodendron maius* на растения клюквы крупноплодной *V. macrocarpon* Ait. при их сокультивировании в условиях *ex vitro*.

Размноженные *in vitro* микрорастения *V. macrocarpon* высаживали в горшки, заполненные торфяным грунтом. В опытные горшки помещали пробки с развитым мицелием *P. fortinii* или *O. maius*. Сокультивирование проводили в условиях искусственного освещения с фотопериодом 16/8 ч. Определяли степень колонизации корней (окрашивание трипановым синим, световая микроскопия), длину и разветвленность побегов, массу корней, стеблей и листьев, содержание фосфора, фенольных соединений, фотосинтетических пигментов (спектрофотометрия). Контролем выступали инокулированные растения, выращиваемые в аналогичных условиях.

Инфицирование корней клюквы микромицетом *P. fortinii* произошло на 5 месяц сокультивирования. Сокультивирование с *P. fortinii* способствовало увеличению биомассы растений. Сырая и сухая масса листьев растений через 5 месяцев сокультивирования увеличилась на 18% и 44% соответственно, стеблей – на 76% и 100%, корней – на 81% и 130%. Через 10 месяцев различия были более выраженные. Содержание фосфора также увеличивалось со временем сокультивирования: через 5 месяцев сокультивирования для листьев на 8%, через 10 месяцев – на 28%; для корней – на 32% и 61% соответственно.

Инфицирование растений клюквы грибом *O. maius* произошло на 2 месяц культивирования, степень микоризации увеличивалась в течение сокультивирования. После 5 месяцев сокультивирования морфометрические показатели растений изменялись в меньшей степени, чем при сокультивировании с *P. fortinii*. Увеличения содержания фосфора в тканях растений не происходило.

Инокуляция грибами не повлияла на содержание фенольных соединений и фотосинтетических пигментов в листьях растений.

Таким образом, микосимбионт *P. fortinii* значительно изменяет морфологию и содержание фосфора в тканях *V. macrocarpon*, однако не изменяет содержание фенольных соединений и пигментов. Микосимбионт *O. maius* не вызывает физиолого-биохимических изменений у растений *V. macrocarpon*.

Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ №22-74-00107.

ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ГЛИОМЫ МЫШИ С НОКАУТОМ ГЕНА КАЛЬРЕТИКУЛИНА

Т. А. Мищенко¹, Е. Л. Гурьев¹, И. В. Балалева¹, Д. В. Крысько¹⁻³, М. В. Ведунова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
saharnova87@mail.ru

²Лаборатория исследования и терапии гибели клеток Гентского университета, Гент, Бельгия

³Гентский институт исследования рака, Гент, Бельгия

Ключевым фактором развития иммуногенной клеточной смерти опухолевых клеток в ходе проведения терапии является мобилизация молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (DAMPs). Высвобожденные во внеклеточное пространство DAMPs действуют не только как сигналы опасности, но и являются участниками активации клеток иммунной системы и формирования стойкого противоопухолевого ответа. Создание модельных систем *in vitro* является необходимым звеном в исследованиях различных форм клеточной гибели и вклада DAMPs в проявление ими иммуногенных свойств.

Цель работы – получение стабильной клеточной линии глиомы мыши с нокаутом гена ключевого DAMPs (кальретикулина) методом CRISPR/Cas9.

Были подобраны последовательности и синтезированы конструкторы, предназначенные для внесения перестроек/делеции во 2-й экзон гена кальретикулина (CRT). Эффективность сборки конструкций и их пригодность для синтеза направляющих РНК подтверждена методом ПЦР и секвенированием. С применением полученных конструкторов была проведена липофекция культур клеток глиомы мыши GL261. Общая нагрузка векторов на культуру не превышала 3000 нг. Методом оптической сортировки с помощью проточного цитофлуориметра-сортера FACS Aria III (BD, США) проведен отбор трансфицированных клеток с последующим рассевом единичных клеток в лунки 96-луночного планшета. Отобранные моноклональные культуры были размножены в условиях CO₂-инкубатора и взяты для дальнейшего ПЦР анализа и секвенирования. В образцах показано наличие делеций (70 и 1 п.о.), которые приводили к сбою рамки считывания гена CRT, изменению аминокислотной последовательности после 35-го аминокислотного остатка и терминации трансляции белка после 73 или 96 аминокислотного остатка из 416, составляющих полноразмерный белок. Полученные результаты позволяют рассчитывать на отсутствие экспрессии полноразмерного белка CRT в полученном клоне клеточной линии GL261.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №22-15-00376, <https://rscf.ru/project/22-15-00376/>).

DO LOCI REGULATING ANTHOCYANINS GRAIN PIGMENTATION AFFECT THE GRAIN YIELD AND QUALITY IN NEAR-ISOGENIC BARLEY LINES?

C. A. Molobekova^{1, 2}, *T. V. Kukoeva*¹, *O. Yu. Shoeva*^{1, 2}

¹Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090, Novosibirsk, Lavrentiev ave., 10;
k.molobekova@g.nsu.ru

²Novosibirsk State University, 630090, Novosibirsk, st. Pirogova, 2

The development of crops enriched with health-promoting compounds is a promising task. New barley lines accumulating anthocyanins, strong antioxidants, in the grain were bred in our laboratory from the Siberian cultivars Aley, Tanay, and Vorsinsky2.

Genes responsible for anthocyanin synthesis in the lemma (HvMyc2) or pericarp (Ant1, Ant2) were introgressed into landraces from exotic blue-grained 'BA' and purple-grained «PLP» barley lines, respectively, using six backcross generations. The resulting nearly-isogenic barley lines (NILs) could inherit non-target loci from the donors which may affect important agronomic traits. Therefore, here we aimed to study the effects of donor-derived genomic regions inherited by barley NILs on the agronomic traits.

Genotyping by sequencing (GBS) was used to evaluate the effectiveness of recovering the recurrent parent genotype in NILs. From GBS data, we called 50k SNPs which were used to estimate the genetic distance between NILs and recurrent varieties. Principal component analysis (PCA) showed that NILs clustered with landraces, indicating their genetic similarity, while donor lines formed an outgroup. To locate the donor genomic regions inherited by NILs, we created maps of DNA markers that are polymorphic in both landraces and donors using a custom Python script. Despite the expectation that after six backcrosses, over 95% of the recurrent genotype should be recovered, we found that NILs inherited from 4 to 17% of the donor genome, including extensive regions of up to 600 Mb.

In order to evaluate the possible impact of donor-derived genomic regions on the NILs agronomic traits, we performed an analysis of yield components (number and weight of grains, 1000 kernel weight) and grain biochemical quality (anthocyanin and total phenolic content, antioxidant activity). The study revealed NILs yielded as well as or better ($p < 0.05$) than the original landraces, despite large genomic regions derived from donors. We also found that the high anthocyanin and total phenolic content may contribute to the increased antioxidant activity of the NILs flour.

Therefore, it was shown that the donor genomic regions inherited by NILs with anthocyanin grain pigmentation did not affect agronomically important traits. These results suggest promising prospects for further introduction of these barley lines into agriculture.

This work was supported by RSF 21-76-10024.

ОЦЕНКА ВОЗРАСТНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ХРОНИЧЕСКОМУ СТРЕССУ У ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС (*RATTUS NORVEGICUS*)

А. М. Москаленко, А. Н. Икрин, Н. О. Прохоренко, Т. О. Колесникова, А. В. Калугев

Научно-технологический университет «Сириус», 354340, пгт Сириус Краснодарского края, просп. Олимпийский, 1;
moskalenkonana@mail.ru

Старение связано с нарушением регуляции эмоциональных и эндокринных реакций в стрессовой среде. Для животных модельных объектов трансляционной медицины маркером подобных нарушений принято считать изменения в паттернах поведения, наблюдаемых в поведенческих тестах. Лабораторные крысы (*Rattus norvegicus*) широко используются в качестве объектов нейрофизиологических исследований. Изучение механизмов развития возрастной уязвимости к стрессу и ассоциированных с ним нарушений у крыс является важной задачей современной трансляционной биомедицины. В данной работе было использовано 39 крыс, подвергавшихся 5-недельному непредсказуемому хроническому стрессу. Среди общей выборки 15 молодых крыс (4-6-месячного возраста) и 4 старые (12-14-месячного возраста) являлись контрольными и не подвергались хроническому воздействию стрессоров. После 5 недель хронического стрессирования мы провели поведенческие тесты вынужденного плавания (ВП) и приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ). Для статистического анализа использовался двухфакторный анализ ANOVA ($P < 0.01$). Мы обнаружили различия в группах между молодыми крысами контроль/стресс, а также между молодыми и старыми контроль/контроль в тесте ПКЛ. Так, в группе сравнения молодых крыс контроль/стресс, латентный период выхода в светлый рукав был значительно короче у контрольных крыс, чем у стрессированных, а частота выходов в светлый рукав, частота и продолжительность свешиваний наоборот были выше у стрессированных крыс по сравнению с контрольными. В группе сравнения контрольных крыс молодые/старые, частота выходов в светлый рукав была выше у молодых, чем у старых. В тесте ВП мы обнаружили различия между группами молодых и старых контроль/контроль, а также между молодыми и старыми стресс/стресс. В частности, суммарная длительность активного плавания была выше у молодых крыс, а продолжительность фризинга, напротив, выше у старых. Продолжительность активного плавания была выше у молодых крыс при сравнении молодых и старых стресс/стресс. Таким образом, как в тесте ПКЛ, так и в тесте ВП не были обнаружены различия между старыми и молодыми крысами при хроническом стрессировании, но были обнаружены возрастные различия между контрольными крысами, что дает основания предполагать наличие протекторных механизмов защиты у старых крыс к воздействию непредсказуемых стрессоров. Исследование разных возрастных групп крыс позволяет нам предполагать о большей чувствительности старых животных к хроническому стрессу.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-25-00246.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ДОМИНАНТОВ ГРУППЫ *FORMICA RUFА* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) НА ФУРАЖИРОВОЧНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ПОДЧИНЕННЫХ ВИДОВ

А. А. Мотова, Т. В. Попкова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anna.motova@mail.ru

Межвидовая конкуренция играет важную роль в формировании иерархической структуры сообществ муравьев, состоящей из доминантов и подчиненных видов. На разных уровнях иерархии виды муравьев отличаются по численности семьи, типам фуражировки и степени агрессивности. Доминанты оказывают выраженное влияние на фуражировочную активность подчиненных видов, ограничивая им доступ к свободным нишам. В результате доминантного пресса подчиненные виды могут уходить от конкуренции за счет ярусной стратификации и трофической дифференциации. Цель работы – изучить влияние разных доминантов группы *Formica rufa* на фуражировочное поведение подчиненных видов.

Исследование проведено на территориях с комплексами муравейников *F. aquilonia*, *F. lugubris* (Пустынский заказник, Нижегородская обл.) и *F. polyctena* (г. Саров). В каждом комплексе вблизи с наиболее активными гнездами были заложены по 5 пробных площадок. Проведены учеты динамической плотности муравьев-доминантов (число особей, посетивших квадрат со стороной 0,5 м за 5 мин.). С помощью установок с белковыми и углеводными кормушками, расположенных на уровне почвы, подстилки и травостоя, проанализирована фуражировочная активность доминантов и подчиненных видов. Обработка данных проведена с применением критерия Крускала-Уоллиса и анализа соответствий в среде программирования R.

На основе показателей интенсивности движения фуражиров на дорогах и динамической плотности доминантов (ДП) установлено, что максимальная активность наблюдалась у *F. polyctena* (ДП: $21,9 \pm 5,8$), наименьшая – у *F. lugubris* (ДП: $5,4 \pm 1,7$). Для *F. aquilonia* ДП составила $13,4 \pm 0,9$. Число фуражиров *F. lugubris* на кормушке было значимо ниже по сравнению с *F. aquilonia* и *F. polyctena*. При этом фуражиры *F. polyctena* чаще обнаруживали кормушки по сравнению с *F. aquilonia* ($p < 0,05$). Исходя из показателей, выявлено, что наибольший пресс на подчиненные виды (далее ПВ) оказывает *F. polyctena*, наименьший – *F. lugubris*.

Фуражиры изученных видов доминантов предпочитали белковые кормушки на уровне почвы и подстилки. Рабочие *F. aquilonia* быстрее расширяли поисковую активность на уровень травостоя, фуражиры *F. polyctena* более полно использовали белковые кормушки на нижних уровнях. Рабочие *F. lugubris* реже отмечались на кормушках. В результате разного по силе воздействия доминантного пресса ПВ проявляли разные стратегии ухода от конкуренции. В сообществе с *F. lugubris* ПВ в равной степени использовали белковые и углеводные кормушки. В сообществе с *F. aquilonia* виды *Myrmica* чаще использовали углеводные кормушки и уходили от конкуренции с доминантом за счет обнаружения кормушки до появления на ней доминанта или использования кормушки совместно с доминантом в «слепой зоне». В сообществе с *F. polyctena* ПВ преимущественно использовали углеводные кормушки.

Авторы выражают искреннюю благодарность научному руководителю В.А. Зрянину за помощь в ходе работы.

РОЛЬ ГЕНА SH3GL2 В МИГРАЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИИ СУДЬБЫ НЕЙРОНОВ***А. О. Моторина¹, М. С. Гавриш¹, С. А. Тутукова¹, В. С. Тарабыкин²***¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;*a_motorina99@mail.ru*²Институт клеточной биологии и нейробиологии Университетского медицинского комплекса Шарите, 10117, Берлин, Германия, ул. Шаритеплац, 1

Развитие человеческого мозга следует последовательным, организованным клеточным и молекулярным шагам, которые управляются генетическими механизмами для создания органа для выполнения сложных вычислительных задач более высокого уровня, таких как познание, память, эмоции, язык и поведение. Нарушение любого из этапов кортикогенеза может приводить к широкому спектру пороков, с различной морфологией коры, генетической или внешней этиологией, родственными синдромами и клиническими проявлениями. Регуляция транскрипции необходима для правильного функционирования клеток во время развития и в постнатальной жизни.

К молекулам, вносящим вклад в регуляцию кортикогенеза, относят нескольких представителей семейства транскрипционных факторов Neurod – Neurod1, Neurod2 и Neurod6. Семейство Neurod известно, как важнейший регулятор дифференцировки, миграции, выживания и спецификации клеток во время развития нервной системы.

У мышей с двойным нокаутом Neurod2/6 цитоархитектура коры была описана с увеличением верхних и уменьшением более глубоких слоев. У мышей с тройным нокаутом Neurod1/2/6 рано рожденные нейроны преимущественно подвергаются апоптозу, в результате чего исчезают популяции нейронов VI слоя. Однако, клетки, родившиеся позже, выживают и дифференцируются с временной задержкой.

Чтобы идентифицировать молекулы, находящиеся под прямым контролем транскрипционных факторов Neurod, был выполнен транскрипционный анализ, посредством которого, наш интерес был обращен к гену Sh3gl2, чья экспрессия в мутантных мышах снижена на 76%. Кроме того, по данным глубокого мРНК-секвенирования в комбинации с ChIP-Seq, выявлено, что Sh3gl2 может быть одной из прямых мишеней Neurod2.

Sh3gl2 (SH3-содержащий домен GRB2-подобный белок 2, эндофилин-1) участвует в быстром клатрин-независимом эндофилин-опосредованном эндоцитозе, который является основным путем рециклинга синаптических везикул.

Чтобы исследовать паттерн экспрессии Sh3gl2 в головном мозге эмбрионов Neurod2/6 dKO, мы провели гибридизацию *in situ* в срезах на стадиях e12.5, e15.5 и e18.5. Мы обнаружили сильную экспрессию Sh3gl2 в популяции нейронов глубоких слоев коры в мозге WT на всех стадиях, в то время как экспрессия Sh3gl2 была чрезвычайно снижена при E15.5 и E18.5 в коре головного мозга мутантов Neurod1/2/6 tKO. Однако уровень экспрессии Sh3gl2 был незначительно снижен в коре головного мозга мутантных мышей Neurod2/6 dKO. Мы предполагаем, что экспрессия Sh3gl2 может быть компенсирована эктопической экспрессией Neurod1.

Потенциально, восстановление экспрессии идентифицированных генов-мишеней может частично или полностью восстановить миграцию и распределение нейронов мутантных мышей, а также позволит понять процессы, лежащие в основе нейрогенеза и формирования коры.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 22-14-00232.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КСЕРОМЕЗОФИЛЬНЫХ И МЕЗОКСЕРОФИЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ СОСНОВЫХ ЛЕСОВ НИЖЕГОРОДСКОГО ПОВОЛЖЬЯ

Д. В. Мохов, А. В. Чкалов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sardynix@gmail.com

Сосновые леса играют значительную роль в ландшафтах Нижегородского Поволжья. Релевантная классификация сообществ – важный этап в понимании закономерностей их организации, выявления экологических и биогеографических факторов, влияющих на состав, структуру и продуктивность. Целью работы являлась оценка экологической дифференциации фитоценозов, выделенных по принципам доминантно-флористической (ДФК) и эколого-флористической классификации (ЭФК).

Использовано 105 геоботанических описаний, выполненных по стандартной методике (75 описаний из личных архивов В.И. Волкорезова, 30 описаний выполнено в июне 2023 г.). Проведена оценка экологических режимов с использованием экологических шкал Д.Н. Цыганова (1983) с расчетом среднего и ошибки среднего по фитоценозам (Фн).

Сообщества зеленомошных, беломошных, травяно-зеленомошно-беломошных сосняков разделены на 13 Фн на основе ДФК, упорядоченных в экологический ряд (отраженный в нумерации) уменьшения увлажнения, которые можно формально отнести к трём группам в соответствии с ЭФК. Зеленомошные сосняки (асс. *Dicrano-Pinetum*): чернично-зеленомошные (Фн1), чернично-бруснично-зеленомошные (Фн2), чернично-брусничные (Фн3), брусничные (Фн4), бруснично-зеленомошные (Фн5), зеленомошные (Фн6). Беломошные неостепенные сосняки (асс. *Cladonio-Pinetum*): зеленомошно-беломошные (Фн7), беломошные (Фн8), тонконогово-зеленомошно-беломошные (Фн12), тонконогово-овсяницьево-зеленомошно-беломошные (Фн13). Третья группа – остепенные сосняки союза *Cytiso-Pinion*: косянично-травяно-зеленомошные (Фн9), зимолюбково-травяно-зеленомошные (Фн10), травяно-зеленомошно-беломошные (Фн11).

Первая группа четко отличается от других большей степенью увлажнения (13,29–12,50) и затенения (4,92–4,05). Внутри группы выделяются Фн2 и Фн3, у которых, относительно других, наименее богатые (4,62 и 4,78, соответственно), наиболее бедные азотом (4,26 и 4,18) и кислые почвы (5,04 и 5,33). Тогда как остальные Фн более сходны между собой.

Третья группа неоднородна: Фн9 отличается более увлажненными (12,29) и бедными (5,15) почвами, низкой переменной увлажненностью (4,86), большей затененностью (4,28) и близок по большинству параметров к Фн7 и Фн8 второй группы, а остепенные сосняки Фн10 и Фн11 ближе к неостепенным сообществам второй группы (Фн12 и Фн13).

Таким образом, наблюдается экологическая гетерогенность групп Фн, разграниченных по принципам ЭФК на основе диагностических видов, указанных в литературе. Необходима синтаксономическая обработка этих сообществ с учетом региональной специфики и приведением объема Фн в соответствие с их экологией.

ВЫЯВЛЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ГИДРАВЛИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ СТИМУЛОВ

М. А. Мудрилов, Я. А. Ветрова, М. М. Ладейнова, В. А. Воденев

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mtengri@yandex.ru

На сегодняшний день не вызывает сомнений тот факт, что растения способны оперативно воспринимать изменения окружающей среды и адекватно адаптироваться под них. Одним из ключевых компонентов механизма адаптации являются сигнальные системы. У растений выделяют три сигнальные системы: электрическую, химическую и гидравлическую. Гидравлические сигналы являются наименее изученными из сигнальных систем растений, и на данный момент не ясно, способны ли они передавать специфичную информацию о стимуле. Целью работы является определение стимул-специфичных особенностей гидравлических сигналов проростках пшеницы.

Объектом исследования выступали 2-3-х недельные растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Стимул наносили на кончик второго взрослого листа, стимулами выступали ожог спичкой, постепенный нагрев в кювете с водой и механическое повреждение путем раздавливания кончика листа. Гидравлический сигнал 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 кювете LTR-EU-2-5 (L-Card, Россия).

Нанесение стимула вызывало распространение гидравлического сигнала, регистрируемого в виде изменения толщины листа, однако особенности изменения толщины листа проявляли зависимость от типа стимула. В случае нагрева наблюдалась продолжительная фаза сужения листа, начинающаяся через некоторое время после его начала, переходящая затем в намного более длительную фазу утолщения листа. В случае ожога и механического повреждения снижение толщины листа является кратковременным, также предшествующим фазе утолщения. Амплитуда утолщения также различается в зависимости от стимула – в случае нагрева она наибольшая, при механическом повреждении наименьшая, причем при механическом повреждении и ожоге наблюдается более значительный спад амплитуд по мере удаления от места стимула. Кроме того, различия наблюдались в длительности и скорости развития фазы утолщения. Длительность была наибольшей при нагреве, однако скорость утолщения была примерно одинаковой со скоростью при механическом повреждении, значительно уступая скорости при ожоге.

Таким образом, можно заключить, что параметры гидравлического сигнала являются стимул-специфичными, что позволяет предположить информационную роль гидравлических сигналов в растениях.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00388).

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УГЛЕКИСЛОТНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН *HEDYSARUM ALPINUM L.* И *GLYCYRRHIZA GLABRA L.*

К. Е. Мусабекова, А. Л. Ковалёва, Н. С. Зиннер, К. В. Тюлькевич

Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
rinka13chiba@mail.ru

Систематическая заготовка лекарственных растений из природных популяций привела к риску исчезновения некоторых видов, вызывая сокращение биоразнообразия. На сегодняшний день существуют сложности культивирования лекарственных растений для фармацевтической промышленности, и одной из причин является низкая всхожесть семян. С целью сохранения биоразнообразия, возрастает актуальность поиска эффективных биологических стимуляторов всхожести, что позволит разработать технологию для культивирования данных культур и заготавливать сырье без угрозы истребления растений.

Целью исследования является выявление стимулирующего действия углекислотных экстрактов на всхожесть семян лекарственных растений семейства *Fabaceae*, занесенных в некоторые региональные Красные книги, таких как *Hedysarum alpinum L.* и *Glycyrrhiza glabra L.*

В работе в качестве биостимуляторов использовались углекислотные экстракты в концентрации 0,5% – препарат Агро-САС (ООО «СОЛАГИФТ») и клеточный сок пихты сибирской (ООО «СОЛАГИФТ»). Семена репродукций Сибирского ботанического сада замачивали в экстрактах на протяжении двух часов перед посевом, в контрольном варианте использовалась дистиллированная вода. Опыт проводился согласно общепринятой методике интродукции лекарственных и эфирномасличных растений.

Установлено, что при обработке препаратом Агро-САС всхожесть семян *G. glabra* и *H. alpinum* достоверно увеличилась на 7% и 22% соответственно. При исследовании влияния клеточного сока пихты сибирской на всхожесть семян *H. alpinum* и *G. glabra* достоверных различий не выявлено.

В результате проведенных исследований обнаружено, что препарат Агро-САС является перспективным стимулятором прорастания семян лекарственных растений семейства *Fabaceae*. Однако при использовании препарата следует учитывать его видоспецифичность.

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ, ЛИЗИРУЮЩИХ ПАТОГЕНЫ *ESCHERICHIA COLI* И *SALMONELLA ENTERICA****Г. И. Муталлапова, З. А. Азнабаева, М. С. Федорова, Е. Ю. Трizza, А. Р. Каюмов***Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
555guzel01@mail.r

В настоящее время чрезмерное применение антибиотиков способствует появлению патогенных бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), которые представляют серьезную угрозу общественному здравоохранению. Известно, что *Salmonella enterica* (и ее серотипы) и энтеропатогенная *Escherichia coli* являются причинами развития тяжелых желудочно-кишечных заболеваний. За последние десятилетия, согласно данным Европейской сети по эпиднадзору за устойчивостью к антимикробным средствам, наблюдается значительное увеличение количества антибиотикорезистентных штаммов данных бактерий. Одним из альтернативных и перспективных терапевтических подходов для борьбы с бактериями с МЛУ является фаготерапия.

Известно, что сточные воды и естественные водоемы являются активным хранилищем бактериофагов, поэтому в данном исследовании проводился поиск, выделение бактериофагов из водоемов, вирулентных в отношении таких патогенных микроорганизмов как *Escherichia coli* и *Salmonella enterica*. Для выделения бактериофагов проводили отбор проб воды из рек Низьелга и Кусюкла (Республика Башкортостан), реки Малая Кокшага (Республика Марий Эл), сточных вод г.Казани (Республика Татарстан) с последующей фильтрацией и оценкой вирулентных свойств. Результаты показали значительную активность фаголизатов, полученных из рек Низьелга, Кусюкла, Малая Кокшага и сточных вод в отношении *S. enterica*; фаголизаты, специфичные в отношении бактерий *E. coli* были получены из сточных вод.

Таким образом, нами были получены фаголизаты *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*. В дальнейшем планируется очистка, идентификация и характеристика бактериофагов и оценка их штаммоспецифичности и способности повышать активность антибактериальных препаратов при сочетанном использовании.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2022-0017.

ТРОФИЧЕСКИЙ СТАТУС РЕКИ ОКА В ГРАНИЦАХ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ ПО СОДЕРЖАНИЮ ХЛОРОФИЛЛА «А» (2017-2023 ГГ.)

Д. В. Мушаков^{1, 2}, Д. А. Журова^{1, 2}, А. А. Ревухин^{1, 2}

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mushakov.dv@yandex.ru

²Нижегородский филиал ФГБНУ «ВНИРО», 603116, Нижний Новгород, Московское шоссе,
31

Ока – второй по водности и протяженности русла правый приток р. Волги, одна из крупнейших рек в Европе, на территории ее бассейна расположено 16 субъектов РФ с хорошо развитой промышленностью и сельским хозяйством. Исключительная значимость наряду с высокой антропогенной нагрузкой реки обуславливает необходимость проведения мониторинговых оценок развития фитопланктона – основного продуцента органического вещества водоемов, для оценки состояния которого часто используют содержание хлорофилла «а» (Хл а), являющегося основным пигментом зеленых растений.

Материалом для работы послужили фондовые данные Нижегородского филиала ФГБНУ «ВНИРО», а также личные сборы авторов в период с июля по сентябрь 2017-2023 гг. Отбор проб (54) на анализ фотосинтетических пигментов фитопланктона был проведен в русловой зоне р. Ока, в границах Нижегородской области, (населенные пункты: Ефаново, Павлово, Низково, Дуденево, Н. Новгород). Содержание пигментов определяли стандартным спектрофотометрическим методом. Оценку трофности проводили по средним концентрациям Хл а на каждом участке в соответствии с классификацией С.П. Китаева (2007). Для проведения корреляционного анализа между содержанием Хл а и водностью (%) от среднемноголетней были использованы усредненные данные из ежегодников «Качество поверхностных вод Российской Федерации» на станциях «Муром» и «Горбатов» с 2017 по 2022 гг.

За период исследований концентрация хлорофилла «а» изменялась в пределах от 13,66 до 167,39 мкг/л. Среднемноголетние концентрации Хл а на каждой станции составили: Ефаново – 46,55±12,95 мкг/л, Павлово – 45,2±10 мкг/л, Низково – 47,21±6,01 мкг/л, Дуденево – 86,82±17,93 мкг/л, Н. Новгород – 79,21±5,74 мкг/л. Таким образом, акваторию реки можно разделить на 2 участка: до г. Дзержинск (Ефаново, Павлово, Низково) и после (Дуденево, Н. Новгород). Проведенные в 2023 г. исследования у г. Н. Новгород показали, что концентрация Хл а у левого берега р. Оки на 10-16% выше, чем у правого, что отражает повышенный уровень антропогенного воздействия на левобережный поток окских вод.

Наименьшее содержание хлорофилла «а» в среднемноголетней динамике отмечены в 2018 г. – 35,51±2,94 мкг/л, а наибольшее в 2019 – 109,35±20,74 мкг/л, что может быть связано с уровнем водности реки (коэффициент корреляции Спирмена содержания хлорофилла и водности составил – 0,83 при $p = 0,042$).

Таким образом, по средним показателям хлорофилла «а» уровень трофности участка р. Ока до г. Дзержинск характеризуется как β-эвтрофный, после Дзержинска концентрация пигментов возрастает почти в 2 раза, трофический статус – политрофный. Такой скачок в развитии фитопланктона может быть обусловлен как влиянием впадением ее крупнейшего притока р. Клязьма, так и сбросом стоков с ближайших промышленных предприятий.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛАЗЕРА НА РАСТВОРЫ IgG *IN VITRO****Е. И. Нагаев, Р. М. Саримов, Т. А. Матвеева, А. В. Симакин, И. В. Баймлер***Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38
nagaev_e@kapella.gpi.ru

С момента изобретения лазера, его применение плотно вошло в разные сферы жизни. Не стала исключением и медицина: с помощью лазеров стало возможным анализировать поверхностный состав тканей (диффузионная спектроскопия), проводить томографию отдельных тканей и использовать лазеры в хирургии. С помощью лазеров стало возможным делать минимально инвазивные операции, в отличие от традиционных скальпелей, а также проводить операции, ранее не доступные. В зависимости от типа лазера и типа операции, могут происходить разные физические процессы: нагрев тканей, абляция, лазерный пробой, коагуляция и т.д. В случае использования импульсных лазеров, возможно проводить операции по «сшиванию» тканей. Обычно для этих целей используют Nd:YAG лазеры, так как их излучение на длине волны 1064 нм позволяет работать с поверхностным слоем тканей, не нагревая более глубокие слои.

Взаимодействие лазерного излучения с биологическими тканями хорошо известно. Напротив – взаимодействие излучения с отдельными биологическими молекулами изучено недостаточно. Функции белковых молекул определяются их трехмерной структурной – конформацией. При ее изменении возможна потеря первоначальных функций или их изменение.

Известно, что внешние воздействия могут влиять на структуру и свойства белков. В данной работе проведено исследование воздействия оптического пробоя, индуцированного хирургическим Nd:YAG лазером, на свойства растворов человеческих иммуноглобулинов IgG. С помощью оптических методов (фотонная корреляционная спектроскопия, спектроскопия поглощения и флуоресценции, рефрактометрия) показано, что лазерный пробой влияет на свойства белковых растворов. Степень изменений зависит от мощности лазерного импульса, времени воздействия и гармоника излучения. Показано, что добавление наночастиц оксида железа влияет на оптические свойства белковых растворов. Авторы данной работы предполагают, исходя из измеренных оптическими методами данных, что в результате воздействия имела место частичная денатурация белков и агрегация. При этом показано, что во всех случаях после 30-минутного воздействия подавляющее число молекул остается в нативном состоянии. Таким образом, авторами сделан вывод, что операции с использованием лазерного хирургического скальпеля не оказывают существенного влияния на IgG, что может говорить о безопасности операций с использованием таких лазеров с точки зрения работы иммунной системы.

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ НУКЛЕОСОМ И СУБНУКЛЕОСОМ, РЕОРГАНИЗОВАННЫХ ШАПЕРОНОМ ГИСТОНОВ FАСТ

А. С. Назарова, Д. А. Афонин, О. И. Волох, О. С. Соколова, В. М. Студитский

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва,

Ленинские горы, 1;

nazarova_alina2001@mail.ru

Нуклеосома – структурная единица хроматина, состоит из последовательности ДНК длиной в 145-147 п.н., обернутой вокруг октамера гистонов. Нуклеосома ограничивает доступ аппарата транскрипции к ДНК и представляет собой первичный уровень регуляции экспрессии генов. Нуклеосомы способны принимать широкий спектр конформаций, что прямым образом влияет на архитектуру хроматина и регулирует транскрипцию, репликацию и репарацию молекулы ДНК. Перемещение гистонов и реорганизация нуклеосом возможны благодаря работе АТФ-зависимых ремоделеров хроматина.

Facilitates Chromatin Transcription (FACT) – шаперон гистонов, принимающий участие как в реорганизации нуклеосом, так и в их сборке за счет перемещения димеров гистонов H2A/H2B. Его работа не требует АТФ, что отличает его от остальных ремоделеров хроматина. Структурно он представляет собой гетеродимерный комплекс, состоящий из субъединиц SSRP1 и Spt16, каждая из которых содержит по несколько доменов. Для обратимой реорганизации нуклеосом дрожжевому FACT, состоящему из субъединиц Spt16/Pob3, требуется вспомогательный транскрипционный фактор Nhr6. Механизм реорганизации нуклеосом под действием FACT до сих пор неизучен.

В данной работе была уточнена первая модель реорганизации нуклеосом дрожжевым фактором FACT с помощью методов электронной микроскопии. Были получены тетрасомы на 78 п.н. матрице ДНК. Качество тетрасом было проверено электрофоретически в неденатурирующих условиях с помощью детекции сигнала флуоресцирующих меток, расположенных на концах матрицы. Была проведена реакция реорганизации тетрасом дрожжевым фактором FACT в присутствии Nhr6. Реорганизация полученных комплексов подтверждена образованием фракции медленно идущих частиц в нативном электрофорезе.

Были подготовлены образцы для проведения просвечивающей электронной микроскопии, и получены негативные микрографии тетрасом и их комплексов с FACT. В результате статистического анализа набора проекций отдельных частиц удалось получить характерные усредненные проекции, соответствующие тетрасомам, реорганизованным комплексом FACT и Nhr6. Сравнение полученных изображений с ранее опубликованными нашей группой результатами для нуклеосом позволило уточнить модель обратимой и АТФ-независимой реорганизации нуклеосом шапероном гистонов FACT.

Работа поддержана грантом РНФ (проект № 19-74-30003).

АНАЛОГО-ЦИФРОВОЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЛОКАЛЬНЫХ ПОЛЕВЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ГИППОКАМПА МЫШЕЙ ДЛЯ ЗАДАЧИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

А. В. Наумов, И. М. Кипелкин, М. И. Самбунова, В. В. Разин, А. В. Бельтюкова, Н. В. Громов, А. Е. Мальков, Л. А. Смирнов, Т. А. Леванова, С. А. Герасимова, А. В. Лебедева
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
al.naumov05@gmail.com

Гиппокамп является отделом, отвечающим за консолидацию памяти, за процессы пространственной ориентации и эмоций. При развитии многих нейродегенеративных заболеваний происходит нарушение в функционировании нейрональных сетей гиппокампа. Поэтому, разработка современных подходов к восстановлению функций нейронов или искусственному «добавлению» нейрональной активности в гиппокампе является актуальной задачей современной нейробиологии и медицины.

Цель исследования – изучить процесс искусственного добавления дополнительной нейрональной активности в виде предсказанного нейросетью гиппокампального сигнала для оценки возможности генерации выходного ответа (локального полевого потенциала) в срезах гиппокампа мышей.

Эксперимент включал в себя регистрацию локальных полевых потенциалов в апикальных дендритах пирамидных нейронов и регистрацию популяционных спайков в телах пирамидных нейронов в двух областях гиппокампа (CA3 и CA1) лабораторных мышей при подаче электрической стимуляции разной стимуляции из зубчатой фасции. Сигналы были получены с помощью сети LSTM и переданы через аппаратную платформу Arduino UNO. Проводилось математическое вычитание подаваемого сигнала из вычитаемого для качественной демонстрацией ответа.

Было получено, что при амплитуде подаваемого сигнала 1В был получен локальный полевой потенциал амплитудой 0.2 мВ, что свидетельствует о наличии реального отклика от дендритов пирамидных нейронов в CA1 области в ответ на подаваемую дополнительную нейрональную активность, закодированную на плате Arduino с помощью аналого-цифровых подходов.

Заключение:

Было проведено первое исследование по добавлению дополнительной нейрональной активности в срезах гиппокампа и при использовании междисциплинарного подхода – одновременного применения технологий искусственного интеллекта, схемотехники и нейробиологии. Данный подход позволил разработать нейрогибридную технологию восстановления нейрональной активности в гиппокампе в ответ на предъявление нейрональной активности гиппокампа, зарегистрированной заранее. Несмотря на то, что данная технология еще имеет некоторые недостатки, практическое применение его очевидно: от разработки «умных» роботизированных систем и технологий мозг-компьютер до нейропротезирования.

Получение сигналов в срезах гиппокампа и схемотехнические эксперименты были проведены при поддержке гранта РНФ № 23-75-10099. Предобработка сигналов и их предсказание были проведены при поддержке гранта № FSWR-2021-0013.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ V-1 И V-4 ПОРЯДКА *PSEUDOMONADALES*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Я. К. Немцева¹, П. А. Журилов², А. И. Тютрина²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nat.nemtseva2015@yandex.ru

²ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3

Род *Acinetobacter* представлен граммотрицательными, убиквитарными, сапрофитическими и, в основном, свободноживущими бактериями. Некоторые его представители вызывают тяжелые заболевания и инфекции как нозокомиальной, так и внебольничной природы. Число известных акинетобактеров растет, и на 2024 г. род *Acinetobacter* представлен 111 видами. Недавно описанные, эмерджентные виды изучены недостаточно, а отсутствие информации об их экологии, распространении и даже культуральных свойствах делает их потенциальной угрозой для общественного здравоохранения. Неизвестна и их антибиотикорезистентность, которую необходимо изучать для оценки имеющихся на сегодняшний день терапевтических возможностей.

Цель данной работы – изучить бактериальные изоляты порядка *Pseudomonadales*, выделенные от продуктов питания растительного происхождения.

Объектами для исследования являлись изоляты V-1 и V-4, выделенные в ННИВИ – филиала ФГБНУ ФИЦВиМ с поверхности огурца, который был приобретен на одном из рынков г. Нижний Новгород.

Видовую принадлежность изолятов определяли методом секвенирования и анализа последовательности гена 16S рНК. Последовательность гена 16S рНК изолята V-1 идентична на 99,34% *Acinetobacter courvalinii* и *Acinetobacter vivianii*, V-4 – *A. courvalinii* на 99,18% и *A. vivianii* на 99,03%.

Определение культуральных и морфологических свойств проводили на среде Nutrient agar (NA) (HiMedia, Индия) и XLD (HiMedia, Индия). Для определения тинкториальных свойств изолятов использовали метод окрашивания мазков по Граму, результат которого оказался неоднозначным; коккобациллярные клетки обоих изолятов окрашивались как грамположительные. Также изоляты демонстрировали рост, характерный для неколиформных бактерий на среде XLD, предназначенной для селективного выделения бактерий порядка *Enterobacterales*.

Оценку чувствительности исследуемых изолятов к антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом и методом минимальной подавляющей концентрации. Было установлено, что оба изолята имеют мультирезистентный фенотип.

У обоих изолятов была обнаружена капсула на темном фоне при использовании набора для окрашивания капсул (HiMedia, Индия). Фенотипически было установлено наличие у изолятов V-1 и V-4 лецитиназной, желатиназной и гемолитической активности (бета-гемолиза) в отношении эритроцитов барана и человека. На среде Motility test agar (HiMedia, Индия) изоляты не демонстрировали подвижность, но имели факультативно анаэробный рост или рост аэротолерантных бактерий, не характерный для *Acinetobacter*.

Таким образом, в ходе комплексного подхода к идентификации изолятов был сделан вывод, что изоляты V-1 и V-4 являются *A. courvalinii*, поскольку желатиназная активность – это дифференцирующий признак, характерный для данного вида и отсутствующий у *A. vivianii*.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОДОЗОВОГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ РЕАКЦИЙ ФОТОСИНТЕЗА, ВЫЗВАННЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМИ СИГНАЛАМИ У РАСТЕНИЙ ТАБАКА

Ю. А. Немцова, В. А. Воденев, М. А. Гринберг

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
julnemtsova@yandex.ru

Адаптация растений к изменяющимся условиям среды осуществляется посредством работы сигнальных систем, регулирующих подстройку физиологических процессов. Повышенный радиационный фон в зоне произрастания растений может влиять на их способность к адаптации. В предыдущих наших работах было показано влияние ионизирующего излучения (ИИ) на амплитуду электрических сигналов (ЭС) и вызываемых ими фотосинтетических ответов (ФС). Показанные изменения могут служить механизмом модификации адаптации у облучённых растений и требуют дальнейшего изучения. Целью настоящей работы являлось изучение влияния ИИ на пространственно-временные характеристики индуцированных нагревом электрических сигналов и вызываемых ими фотосинтетических ответов.

Эксперименты проводились на контрольных и облученных группах растений табака *Nicotiana tabacum* L. возрастом 6 недель. Для облучения использовался закрытый источник ^{90}Sr - ^{90}Y , являющийся β -излучателем. Активность источника составляла 0,1 МБк, мощность дозы – примерно 31,3 мкГр/час. Суммарная накопленная доза составляла около 31,55 мГр. Контрольные растения выращивались в аналогичных условиях в отсутствие источника ИИ. ЭС индуцировался нагревом кончика молодого полностью развитого листа. Измерение параметров электрических сигналов осуществляли при помощи макроэлектродной техники (Semico, Россия). Для регистрации параметров световой стадии фотосинтеза использовали РАМ-флуориметр PlantExplorerPro+ (PhenoVation, Нидерланды).

В работе производили регистрацию ЭС и ответов ФС в трёх листьях, где первый подвергался локальному нагреву, а второй и третий были интактными. У облученных растений наблюдали усиление амплитуды ЭС, наибольшая разница между контрольной и облученной группой наблюдалась по второму листу. Распространение ЭС приводило к подавлению активности фотосинтеза. Регистрация фотосинтетических ответов производилась через 0,5, 24, 48 и 72 часа после нагрева. Наиболее выраженные изменения регистрировались в день нагрева, однако на примере одного из ключевых показателей фотосинтеза – NPQ (нефотохимическое тушение флуоресценции) было показано, что эффект сохранялся через 24, 48 и 72 часа после распространения ЭС, индуцированного нагревом. Облучение усиливает амплитуды фотосинтетических ответов у растений табака: статистически значимые отличия между контрольной и облученной группой наблюдались через 48 и 72 часа на первом листе и через 72 часа на втором. Таким образом, ИИ способствует увеличению пространственно-временных характеристик фотосинтетических ответов, вызываемых распространением ЭС, что может лежать в основе изменения способности к адаптации к стресс-факторам.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 23-24-00340.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ ДИНОФИТОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ (*DINOPHYTA*) В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ Г. НИЖНЕГО НОВГОРОДА

Д. А. Никушин, Н. А. Старцева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nikishin.dmitry11@yandex.ru

Динофитовые водоросли (*Dinophyta*) являются неотъемлемой частью морских и пресноводных экосистем и играют значительную роль в альгоценозах водоемов. Среди них известны автотрофы, миксотрофы, гетеротрофы, симбионты и паразитические виды, а также виды, продуцирующие токсины. На сегодняшний день известно около 2500 современных видов динофлагеллят. Первостепенной задачей в определении их биологического разнообразия и эколого-географической характеристики является составление списков видов. Особый интерес эта группа вызывает в связи с использованием их в качестве индикаторов экологического состояния водоемов.

На территории г. Нижнего Новгорода расположены 39 водных объектов лентического и 12 лотического типа, имеющих различные гидрологические характеристики, происхождение, трофический статус и уровень антропогенной нагрузки. В период с 1996 г. и по настоящее время ведется изучение планктофитоценозов озер, прудов и рек города в рамках экологического мониторинга.

Для составления таксономического списка *Dinophyta* были использованы архивные материалы по альгофлоре озер Мещерское, Лунское, Сормовское, Парковое, Силикатное, Светлоярское, Счастливое, Сортировочное, пруды Щелоковские (Верхнее, Среднее, Нижнее), малых рек Старка, Кова, Рахма, Левинка, Борзовка, Ржавка, Гниличка и Черная.

К настоящему времени установлено, что динофитовые водоросли изученных водных объектов г. Нижнего Новгорода представлены 5 порядками, 10 семействами, 16 родами, 26 видами, три из которых определены только до рода. Наибольшим таксономическим разнообразием отличались динофитовые озер Мещерское, Силикатное, Лунское, Сормовское (10-14 видов) и реки Черная (11 видов). В остальных водных объектах число видов колебалось от 2 (р. Ржавка) до 9 (оз. Сортировочное). Наиболее разнообразны в таксономическом отношении были сем. *Gymnodiniaceae*, *Peridiniaceae* (по 5 видов) и *Peridiniopsidaceae* (4 вида). В большинстве водных объектов (ВО) встречались *Apocalathium aciculiferum* (Lemmermann) Craveiro, Daugbjerg, Moestrup & Calado (12 ВО), *Peridinium cinctum* (O.F.Müller) Ehrenberg (15 ВО), *Peridiniopsis quadridens* (F.Stein) Bourrelly (16 ВО) и *Ceratium hirundinella* (O.F.Müller) Dujardin (17 ВО). В эколого-географическом плане флора динофитовых водорослей в основном сформирована планктонными широко распространенными видами, индифферентными к кислотности и галобности среды. По отношению к органическому загрязнению преобладают α - β -мезосапробы.

Интересными находками в оз. Лунском в 2023 г. стали *Unruhadinium kevei* (Grigorszky & F.Vasas) Gottschling, ивазийный вид, иногда формирующий «цветение» воды, а также потенциально токсичный *Naiadinium polonicum* (Woloszynska) Carty, продуцирующий ихтиотоксин гленодинин, вызывающий тяжелые отравления у людей при употреблении в пищу рыбы.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *FUSARIUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СУХОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ

*А. А. Николаева*¹, *М. Т. Лутфуллин*¹, *С. А. Хворова*¹, *С. Г. Вологин*², *А. М. Марданова*¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
azazel1212@rambler.ru

²Татарский НИИ сельского хозяйства, 420059, Казань, Оренбургский тракт, 48

Картофель занимает четвертое место по значимости среди пищевых культур в России. Одной из причин потери урожая картофеля является сухая гниль – распространенное послеуборочное заболевание клубней, вызываемое *Fusarium spp.* и приводящее к большому экономическому ущербу, а также ухудшению параметров качества урожая, таким как снижение содержания крахмала и амилозы, накопление микотоксинов. Фитопатогенные штаммы *Fusarium* различаются по своей способности вызывать симптомы сухой гнили картофеля. Целью исследования являлся анализ вирулентности штаммов микромицетов рода *Fusarium*, выделенных из сухой гнили клубней, а также характеристика устойчивости разных сортов картофеля к фузариозу.

Исследуемые штаммы микромицетов были выделены из клубней картофеля сортов Ароза, Ягодный 19, Ред Скарлет и Жуковский ранний с признаками сухой гнили. Было выделено 25 штаммов, которые были идентифицированы на основании морфологических характеристик как представители рода *Fusarium*. Вирулентность штаммов *Fusarium sp.* исследовали путем заражения мицелием внешне здоровых клубней картофеля сортов Регги, Кортни, Зумба и Догода (по 75 клубней на каждый сорт). Зараженные клубни культивировали при комнатной температуре в течение 14 суток. Степень устойчивости сорта картофеля оценивали путем замера длины и глубины поражения относительно размера клубня по 9-бальной шкале, где 9 – нет поражения (полностью устойчив), 7, 5, 3 и 1 – поражение до 1-25, 26-50, 51-75, 76-100% от величины клубня. Индекс устойчивости сорта (CRI) определяли по формуле: $CRI = (\sum TH - \sum TA) / \sum T$, где TH – количество здоровых клубней, TA – количество клубней с признаками фузариоза, T – общее количество клубней. Если $1 \geq CRI > 0$, то сорт является устойчивым, если $0 > CRI \geq -1$, то сорт является восприимчивым.

Установлено, что наиболее устойчивым к фузариозу является сорт Зумба (CRI = 0.1), а наиболее восприимчивыми сорта картофеля – Кортни и Догода (CRI = -0.6 и -0.5). Сорт Регги также был восприимчив к фузариозу (CRI = -0.3). Сравнительный анализ показал, что наиболее вирулентными штаммами микромицетов являются штаммы NS1, NS2, NS3, NS4, N1, N3, N5, N8, MG-3 и Наратлы 2, которые вызывали поражение клубней от 25 до 75% от объема в зависимости от сорта картофеля. Таким образом, установлено, что степень заражения и повреждения клубней зависит как от устойчивости данного сорта картофеля, так и вирулентности фитопатогенного штамма *Fusarium*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-16-00138 на технической базе Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (Приоритет-2030).

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ДЕЦЕЛЛЮЛИРОВАННОГО МАТРИКСА НА ФОРМИРОВАНИЕ ГЛИАЛЬНОГО РУБЦА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

А. А. Новикова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
novikoova3002@mail.ru

Мировая статистика свидетельствует о непрерывном росте травм мозга и их последствий. Сохранение поведенческих и когнитивных нарушений после острой черепно-мозговой травмы (ЧМТ) является свидетельством неспособности человеческого мозга восполнить утраченную ткань. Регенерация ткани головного мозга остается одной из самых больших нерешенных проблем в медицине и многими считается неосуществимой. Повреждение нервной ткани в следствие травмы приводит к множеству патофизиологических процессов, в частности, активация и пролиферация астроцитов, которые мигрируют в очаг поражения, и совместно с другими клетками образуют рубцовую структуру, препятствующую восстановлению аксонов и создающую неблагоприятную среду для регенерации нервной ткани.

Целью исследования являлась оценка влияния гидрогеля на основе децеллюлированного ВКМ мозга свиньи на формирование глиального рубца при моделировании ЧМТ у мышей линии C57BL/6.

Предполагается, что введение гидрогеля на основе децеллюлированного внеклеточного матрикса внутрь объемной потери ткани может восстановить объем матрикса мозга и не допустить активацию нейровоспалительных процессов.

Моделирование открытой тяжелой ЧМТ проводилось «weight-drop» способом по оригинальной методике. Через 7 дней после ЧМТ в область трепанации в зависимости от группы вводили методом инъекции либо PBS (Phosphate Buffered Saline – натрий-фосфатный буфер) (3 группа), либо раствор коллагена Viscoll (4 группа), либо испытуемый гидрогель на основе децеллюлированного внеклеточного матрикса свиньи (группа 5), либо сочетанное применение раствора коллагена Viscoll + гидрогель на основе децеллюлированного внеклеточного матрикса (группа 6). По прошествии 7 и 30 дней были сделаны срезы головного мозга мышей всех экспериментальных групп, а также проведено иммуногистохимическое окрашивание на предмет образования глиального рубца с последующим анализом плотности GFAP+-клеток.

В результате сравнения плотности GFAP+-клеток в области травмы спустя 7 и 30 дней после инъекции, была выявлена способность нейротрансплантата на основе децеллюлированного матрикса мозга снижать плотность астроцитарных клеток спустя 30 дней после введения в область травмы по сравнению с контрольными группами и препаратом на основе коллагена I типа «Viscoll».

Полученные данные позволяют оценить перспективу использования нейротрансплантата на основе децеллюлированного матрикса мозга в тканезаместительной терапии.

ГЗ # №121030100282-6 ПИМУ.

МИКРОПЛАСТИК ПВХ И ЕГО ВОЗДЕЙСТВИЕ НА РАСТЕНИЯ: ИССЛЕДОВАНИЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ ДЛЯ ГИГИЕНИЧЕСКОГО ОБОСНОВАНИЯ ПДК В ПОЧВЕ

А. О. Носова, М. В. Успенская

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, просп. Кронверский, 49;
mast225856@yandex.ru

Микропластик – это загрязнитель окружающей среды, характеризующийся стойкостью, токсичностью, способностью к биоаккумуляции и представляющий собой гетерогенную совокупность пластмассовых частиц различного химического состава, плотности, формы, цвета, первично произведенных или образованных в процессе деградации и фрагментации пластмассовых объектов под воздействием внешних факторов, а также характеризующихся размером от 1 мкм до 5 мм, определяемым как расстояние между двумя максимально удаленными друг от друга точками объекта (максимальный диаметр Фере). Проблема загрязнения микропластиком вызывает все больший интерес у научного сообщества. Обнаружены микрочастицы практически везде, а исследования показывают, что уровень загрязнения суши может быть выше, чем океанов. При этом поливинилхлорид (ПВХ) является одной из самых распространенных пластмасс, используемых в строительстве и сельском хозяйстве. Исследования показывают, что микрочастицы ПВХ могут проявлять токсичность в почвах из-за миграции химических добавок, таких как фталаты, бисфенол А и тяжелые металлы, и влиять на почвенных животных, растения, микробные сообщества и биогеохимические циклы. Актуальным становится вопрос обоснования ПДК данного загрязнителя в почве в том числе для того, чтобы определить минимально необходимый предел обнаружения. В соответствии с Методическими рекомендациями по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве 2609-82 для выполнения данной задачи одним из этапов является определение в краткосрочном опыте фитотоксичности вещества, а также изучение способности накопления в растении.

Для выполнения экспериментов по определению фитотоксичности в чашки Петри с 50 г загрязненной микрочастицами ПВХ (средний размер $106,36 \pm 2,93$ мкм) почвы, подготовленной в соответствии с требованиями вышеупомянутых рекомендаций, высаживали по 20 семян горчицы белой и редиса. Эксперимент выполнялся в трехкратной повторности. На третий день проводился визуальный учет прорастания семян, на седьмой день – измерение корней проростков. Действующей признавалась такая концентрация загрязнителя, которая вызвала торможение развития корней проростков не менее чем на 20 % относительно контроля. Также проводилась статистическая обработка полученных результатов (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA). В результате, для горчицы белой показатель всхожести снизился более чем на 20% при концентрации ПВХ 3% масс., длина корня уменьшилась более чем на 20% при концентрации 7% масс. Для редиса показатель всхожести снизился при 9% масс., а длина корня при 7% масс. Также, было замечено, что микрочастицы могут прирастать к корню в процессе его развития.

Подводя итог, при выполнении данной работы было изучено фитотоксическое воздействие микрочастиц ПВХ.

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКЕРАТИНА 18 У БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СТАНДАРТНОЙ ТЕРАПИИ

И. А. Образцова¹, С. С. Попов¹, В. А. Алейникова², М. С. Ракитина², Е. Д. Крыльский², А. Н. Веревкин²

¹Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10;

wer.all@mail.ru

²Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1

Одним из наиболее частых осложнений сахарного диабета является диабетическая нейропатия. При этом важная роль в развитии заболевания принадлежит нарушению окислительного метаболизма в результате чего происходит повреждение митохондрий, белков и мембран, активация каспаз и инициация апоптотической гибели клеток. Это приводит к тому, что в кровь начинает выделяется цитокератин-18 (ЦК-18), который является основным компонентами промежуточных филаментов и постоянно экспрессируется в различных эпителиальных органах – печень, легкие, почки, поджелудочная железа, желудочно-кишечный тракт, молочная железа, а также в раковых опухолях, возникающих из этих тканей.

В этой связи целью нашего исследования явилось изучение изменения содержания цитокератина 18 у больных диабетической нейропатией и при проведении стандартной терапии.

В исследование было включено 45 пациентов с диабетической нейропатией. Контрольную группу (n = 86) составили практически здоровые лица с нормальными показателями биохимического и общего анализа крови. В ходе клинического исследования использовали сыворотку крови больных. Определение содержания ЦК-18 в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом с использованием набора Human Cytokeratin 18 ELISA Kit (Abscam, Великобритания).

В ходе проведенного исследования было установлено, что у больных с диабетической нейропатией уровень ЦК-18 в сыворотке крови возрастал в 2,7 раза по сравнению с нормой. Согласно данным литературы, апоптоз островковых клеток может играть важную роль в развитии сахарного диабета, а расщепленный каспазой ЦК-18, вероятно, может усиливать процесс апоптоза. Важно отметить, что в модели развития сахарного диабета 2 типа была выявлена значительная экспрессия ЦК-18 в дисфункциональных дельта- и бета-клетках поджелудочной железы. Таким образом, можно предположить, что ЦК-18 может быть вовлечен в патогенез дисфункции поджелудочной железы при развитии сахарного диабета 2 типа и диабетической нейропатии.

При использовании стандартной терапии наблюдалось снижение содержания ЦК-18 в 1,4 раза, по сравнению с показателями до лечения. Это может быть связано со снижением интенсивности окислительного стресса и, как следствие, апоптотических процессов.

Таким образом, определение в сыворотке крови ЦК-18, который представляет собой маркер апоптоза, может быть использовано для мониторинга фармакодинамики химиотерапевтических препаратов у пациентов с диабетической нейропатией.

АНАЛИЗ СПЕЦИФИЧНОСТИ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ И ДИНАМИКИ ФИТОГОРМОНОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СТИМУЛОВ

С. А. Обыденнова, М. М. Ладейнова, М. А. Мудрилов, Д. В. Кузнецова, В. А. Воденеев

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
son.obydennova24@yandex.ru

В природе растения постоянно подвергаются воздействию негативных факторов, и различные сигнальные пути играют ключевую роль в передаче информации о стрессе, регулируя процессы роста и развития. Стрессовые факторы вызывают распространяющийся электрический сигнал (ЭС), представляющий собой переходное изменение мембранного потенциала. ЭС, включая переменный потенциал (ВП), обладают свойством стимул-специфичности, которое проявляется в зависимости параметров сигнала от типа стимула. Кроме того, химические сигналы, такие как Ca^{2+} -волна и некоторые фитогормоны, вероятно, также могут проявлять стимул-специфичные черты. Предполагается, что ЭС и фитогормоны активно взаимодействуют между собой, являясь ключевыми посредниками в системных ответах на локальные раздражители. Целью данной работы является анализ стимул-специфичных особенностей ЭС и динамики фитогормонов при действии раздражителей различной природы.

Объектом исследования выступали 2-3-х недельные растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Раздражение наносилось на кончик второго взрослого листа путем постепенного нагрева в кювете с водой или механического повреждения (МП). Другим стимулом выступало засоление: к корням приливали 100 мМ раствор NaCl. Регистрировали электрическую активность внеклеточно на втором взрослом листе, используя макроэлектроды. Содержание фитогормонов абсцизовой кислоты (АБК), жасмоновой кислоты (ЖК) и жасмонил-изолейцина (ЖК-иле) определяли методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Пробоподготовка включала фиксацию листа жидким азотом, гомогенизацию в экстрагирующем растворе, два этапа экстракции, центрифугирование, концентрирование и фильтрацию.

Как МП, так и локальный нагрев вызывают генерацию ВП, но амплитуда деполяризации в случае МП меньше и реакция быстрее затухает с удалением от зоны повреждения. Засоление вызывает слабо выраженный ЭС в виде гиперполяризации, амплитуда которой затухает по мере распространения. Анализ динамики содержания фитогормонов также показал стимул-специфичные особенности. После МП содержание гормонов возрастало, и концентрации АБК и ЖК-иле достигали максимума через 20 минут, а ЖК – через 10 минут. Различий в амплитуде изменений концентрации АБК при МП и локальном нагреве не зафиксировали, у ЖК и ЖК-иле амплитуда изменения концентрации была значительно больше при локальном нагреве. После засоления увеличивалось только содержание АБК, достигнув максимума к 120 минуте, изменения концентрации ЖК и ЖК-иле не происходило.

Таким образом, различные типы раздражителей вызывают как генерацию и распространение ЭС, так и изменение содержания фитогормонов со стимул-специфичными особенностями. Характер этих особенностей указывает на возможную зависимость процессов генерации ЭС и динамики фитогормонов.

Исследование выполнено за счет гранта РНФ (проект No 22-14-00388).

ВЛИЯНИЕ КОНЬЮГИРОВАННЫХ ФОРМ ОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ И ХИТОЗАНА НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА В УСЛОВИЯХ ЗАКРЫТОГО ГРУНТА К ДЕЙСТВИЮ СОЛЕВОГО СТРЕССА

И. А. Овчинников¹, Ж. Н. Калацкая¹, В. В. Николайчук²

¹Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, ул. Академическая, 27;

igor-1606@mail.ru

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси, 220141, Минск, Беларусь, ул. Фр. Скорины, 36

Исследовано влияние конъюгатов хитозана и оксикоричных кислот (феруловой (Х30-ФРК), и кофейной, (Х30-КФК) кислотой) на формирование устойчивости растений огурца (*Cucumis sativus* L.) к условиям почвенного засоления (полив 100 мМ раствором хлорида натрия 3 раза в течение проведения эксперимента) при их выращивании в закрытом грунте до 8-и недель (стадия образования плодов). Конъюгаты на основе хитозана и оксикоричных кислот применяли посредством обработки семян, а также опрыскивания на стадии одного настоящего листа. Контролем служили необработанные растения. Определяли выход электролитов, содержание пролина и ТБК-продуктов ПОЛ в листьях растений на стадии появления боковых побегов и на стадии образования плодов.

На стадии появления боковых побегов выход электролитов во всех исследуемых вариантах в условиях стресса был на уровне стрессового контроля, который в 1,7 раза превышал значения оптимального контроля. При исследовании содержания ТБК-продуктов, во всех вариантах опыта в условиях стресса значения данного показателя соответствовало значению стрессового контроля, что на 15% превышало значение оптимального контроля. Однако уровень содержания пролина возрос в среднем на 25% относительно стрессового контроля в вариантах обработки Х30-ФРК, Х30-КФК.

На стадии образования плодов отмечали снижение выхода электролитов из тканей листьев растений огурца, выращенных в условиях стресса. В варианте обработки Х30-ФРК данный показатель был ниже стрессового контроля на 20%, а при использовании Х30-КФК выход электролитов был ниже стрессового контроля в 1,7 раза. Все варианты обработки привели к снижению содержания ТБК-продуктов на 15% относительно стрессового контроля. Уровень пролина в листьях растений огурца, выращенных в условиях стресса, снизился в 1,9 и 2,4 раза при обработке конъюгатами Х30-ФРК и Х30-КФК соответственно относительно стрессового контроля.

Можно сделать вывод, что применение конъюгатов на основе оксикоричных кислот способствует снижению повреждающего действия АФК в растениях, выращенных в неблагоприятных условиях (почвенное засоление), о чем свидетельствует снижение активности процессов ПОЛ и утечки электролитов, снижение накопления пролина в клетках листьев растений огурца.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА ЛАНЦЕТНИКА ЕВРОПЕЙСКОГО (*BRANCHIOSTOMA LANCEOLATUM*) ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

А. С. Окатова, Е. О. Смирнова, Я. Ю. Топоркова

Казанский институт биохимии и биофизики РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31;
annaockatova@yandex.ru

В ответ на стрессовые воздействия окружающей среды в клетках всех аэробных организмов запускается каскад реакций, называемый липоксигеназным каскадом. В результате данного каскада образуются оксипирины – окисленные производные полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Оксипирины вовлечены во многие жизненно важные процессы организма. На первом этапе липоксигеназного каскада из ПНЖК при участии липоксигеназ образуются 9- и 13-гидроперекиси. Далее они служат субстратами для ферментов клана СYP74, к которым относятся алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС).

В базах данных присутствуют аннотированные гены ферментов клана СYP74 ланцетников, однако к настоящему времени охарактеризовано только два фермента клана СYP74 у этих животных, а именно VfEAS у *Branchiostoma floridae* и VbEAS/AOS у *B. belcheri*. Для данной работы был выбран ланцетник *B. lanceolatum*, так как недавно был аннотирован его геном, с этим объектом можно проводить эксперименты *in vivo*, и на данный момент не охарактеризовано ни одного фермента СYP74 у данного представителя ланцетников.

Таким образом, цель данной работы – анализ экспрессии генов ферментов липоксигеназного каскада ланцетника *B. lanceolatum* при осмотическом стрессе с последующим выбором генов для клонирования и характеристикой соответствующих рекомбинантных ферментов.

В результате анализа экспрессии генов ланцетника европейского было выявлено 30037 экспрессирующихся генов и, среди них, 9851 ген с дифференциальной экспрессией. Среди генов с дифференциальной экспрессией было найдено 83 гена, предположительно кодирующих ферменты липоксигеназного каскада. Из них 13 генов липоксигеназ (2 с повышенной экспрессией, остальные – с пониженной) и 70 генов цитохромов P450 (22 имели повышенную экспрессию и 48 – пониженную).

На основе полученных данных был выбран ген BL01603, предположительно кодирующий АОС. Анализ соответствующей аминокислотной последовательности показал наличие характерных для ферментов СYP74 каталитически важных доменов. Одним из таких участков является F/L-toggle. У всех охарактеризованных на данный момент ферментов клана СYP74 животных в данном сайте находится фенилаланин, так же как у АОС и ЭАС. У исследуемого объекта в данном сайте находится лейцин, что может свидетельствовать об ДЭС или ГПЛ типе активности.

Работа проведена при поддержке гранта РНФ проект № 23-14-00350.

АНАЛИЗ НОРОВИРУСОВ, НЕСУЩИХ ГЕН GII.P31 РНК-ЗАВИСИМОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ

***С. В. Опарина*^{1,2}, *Н. В. Енифанова*¹, *Н. А. Новикова*¹**

¹Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

svetlanochka.o@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Норовирусы относятся к семейству *Caliciviridae*, род *Norovirus*, вызывают острый гастроэнтерит у человека и животных. Появление новых штаммов норовируса происходит за счет рекомбинации участков генома и антигенного дрейфа. Рекомбинация возможна при коинфекции разными штаммами и обычно происходит в области соединения открытых рамок считывания, кодирующих неструктурные белки (ORF1), в том числе РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp), и белок капсида VP1 (ORF2).

Целью данной работы явился анализ норовирусов, несущих ген РНК-зависимой РНК-полимеразы со специфичностью GII.P31.

В исследование включено 107 последовательностей полного генома норовирусов, представленных в базе данных GenBank и 13 частичных последовательностей генома норовирусов, циркулировавших на территории г. Нижнего Новгорода. Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы MEGA X. Филогенетический анализ проводили в программах BEAUti v1.10.4 и BEAST v1.10.4, с визуализацией результатов в программе FigTree v1.4.4.

По результатам поиска в базе данных GenBank мы установили, что первые рекомбинанты, несущие ген полимеразы GII.P31 в ассоциации с геном капсидного белка VP1 генотипа GII.17, циркулировали в 2005 г. в Латинской Америке. В 2006 г. появились рекомбинанты с GII.4 варианта Osaka, а с 2012 г. широкое распространение по всему миру получили рекомбинанты с GII.4 варианта Sydney. Позднее, в 2014-2015 гг. обнаружены единичные изоляты с VP1 GII.2 и в 2017-2022 гг. – с VP1 GII.4 новых вариантов San_Francisco и Hong_Kong, пока не получивших эпидемическое распространение.

Филогенетический анализ полногеномных нуклеотидных последовательностей показал, что все штаммы кластеризовались согласно типовой принадлежности их капсидного белка – GII.2, GII.17 и GII.4, где GII.4 подразделялся на субкластеры по вариантам норовируса. Аналогичная топология деревьев наблюдалась при анализе на основе нуклеотидных последовательностей отдельных генов, кодирующих структурные и неструктурные белки. Нижегородские изоляты 2018-2021 гг. располагались в кластерах со штаммами из Нидерландов, Японии, Индонезии, США, Канады, Великобритании.

При анализе аминокислотных замен в последовательности RdRp установлено, что наиболее распространенный рекомбинант GII.4Sydney[P31] имеет замены N4S, I175V, I179V, K236R, S427F. Кроме этого в 2017 г. возникла замена K357R, которая располагается в активном центре полимеразы. У RdRp вариантов San_Francisco и Hong_Kong вышеперечисленные замены отсутствуют, то есть наблюдается реверсия гена полимеразы к исходному варианту 2005-2008 гг.

Таким образом, на данном этапе эволюционной истории норовируса с генотипом полимеразы GII.P31 наиболее распространенным оказался вариант в ассоциации с генотипом VP1 GII.4Sydney.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТЕНИЙ РОДА *SPIRAEA* В ФИТОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

А. А. Орлова¹, А. В. Соболева¹, С. А. Силинская¹, М. Казантаева², А. А. Фролов¹, В. А. Костикова³

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Лаборатория аналитической биохимии и биотехнологии, Москва, ул. Ботаническая, 36;

orlova@ifr.moscow

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9

³Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения РАН, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101

Род *Spiraea* L., относящийся к семейству *Rosaceae* Juss., представляет обширную группу растений, широко распространённых на территории Российской Федерации. По различным оценкам исследователей на сегодняшний день на территории страны встречается 20-25 видов данного рода. Спиреи отличаются высокой декоративностью, имеют множество форм и сортов, обладают биологической активностью. Виды рода *Spiraea* представляют значительный интерес как растения, используемые в народной медицине и имеющие большой ресурсный потенциал. В исследованиях показана противодиабетическая, инсектицидная и фунгицидная активность экстрактов некоторых представителей рода. Имеются данные об антимикробной, противовоспалительной, мочегонной, антиоксидантной, противоопухолевой активности некоторых представителей рода. При многообразии проявляемых фармакологических эффектов, исследования фитохимического состава его представителей до сих пор остаются достаточно отрывочными и ограничиваются лишь наиболее распространёнными видами. Именно поэтому, мы считаем, что глубокое фитохимическое исследование представителей данного рода является интересным с точки зрения как фундаментальной, так и прикладной науки, а задача систематического изучения состава вторичных метаболитов данной группы растений и выявление их биологической активности является актуальной задачей.

В исследовании было рассмотрено 15 наиболее распространённых на территории Российской Федерации представителей рода *Spiraea*, среди которых *S. aquilegifolia*, *S. chamaedryfolia*, *S. crenata*, *S. elegans*, *S. flexuosa*, *S. hypericifolia*, *S. media*, *S. pubescens*, *S. sericea*, *S. trilobata*, *S. ussuriensis*, *S. betulifolia*, *S. salicifolia*, *S. salicifolia* f. *alpestris* и *S. humilis*. Анализ мажорных соединений метанольных экстрактов данных видов на основании метода обращенно-фазовой высокоэффективной квадруполь-времяпролетной хромато-масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (ЭР-ОФ-УВЭЖХ-КВП-МС) показал наличие 33 соединений из группы полифенолов, среди которых выделялись производные кверцетина, кемпферола, кофейной и кумаровой кислоты. Скрининг экстрактов на модели цитотоксической активности на клетках HeLa, антиоксидантной активности и противовирусной активности на моделях *in vitro* позволил выделить 2 наиболее перспективных вида – *S. trilobata* и *S. ussuriensis*. На следующем этапе исследования будет проведен глубокий фитохимический анализ выбранных видов с выделением мажорных компонентов в индивидуальном виде и установлением их структуры методами ядерного магнитного резонанса и масс-спектрометрии высокого разрешения, а также установлен спектр биологической активности выделенных соединений и проведен анализ зависимости структура-активность.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №23-24-00310.
<https://rscf.ru/project/23-24-00310/>.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ К СОЕДИНЕНИЯМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

М. А. Осадчева, М. В. Буглова, К. А. Дегтярёва

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 308015,
Белгород, ул. Победы, 85;
1665130@bsu.edu.ru

Горнодобывающая промышленность приводит к ощутимым изменениям всех компонентов окружающей среды, в том числе к загрязнению почв. В Белгородской области есть несколько горно-обогатительных комбинатов, один из которых, Стойленский ГОК, является одним из ведущих предприятий России по объему производства сырья для сталелитейной промышленности.

Согласно мониторинговым исследованиям, почвы находящиеся в зоне влияния подобных промышленных предприятий, характеризуются повышенным содержанием тяжелых металлов. Для снижения их концентрации в почвенном покрове применяются методы биоремедиации, в частности с использованием микроорганизмов. Для этого необходим поиск штаммов, не только проявляющих устойчивость к данным поллютантам, но также способных вовлекать их в биохимические реакции, тем самым уменьшая концентрацию тяжелых металлов в среде.

Целью данного исследования была оценка устойчивости к соединениям тяжелых металлов некоторых почвенных микроорганизмов для использования их в перспективе в качестве биоремедиантов.

Штаммы микроорганизмов были выделены из проб почвы, взятых с двух точек в окрестностях г. Старый Оскол Белгородской области недалеко от Стойленского карьера. Полученные штаммы проверяли на устойчивость к разным концентрациям соединений тяжелых металлов. Некоторые, устойчивые к превышающим ПДК концентрациям, штаммы микроорганизмов были отобраны для последующей оценки их биоремедиационной активности.

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ БЛИЖНЕГО ИНФРАКРАСНОГО ДИАПАЗОНА ДЛЯ ЭНУКЛЕАЦИИ ООЦИТОВ (ПОЛУЧЕНИЯ РЕЦИПИЕНТНОГО ЦИТОПЛАСТА)

А. А. Осыченко, М. С. Егорова, Д. Ю. Мартиросян, А. Д. Залесский

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4;
alina.osychenko@chph.ras.ru

В биомедицине существует запрос на создание реципиентного цитопласта – яйцеклетки, из которой удалили ядерную ДНК. Реципиентный цитопласт применяется для клонирования животных, а также в вспомогательных репродуктивных технологиях человека для реализации метода цитоплазматической замены. Получение реципиентного цитопласта традиционно называют энуклеацией, и в обычной практике эту процедуру выполняют при помощи микроманипулятора: плазматическую мембрану ооцита прокалывают микроиглой, а затем проводят аспирацию метафазной пластинки. Известно, что в окрестностях метафазной пластинки содержатся различные репрограммирующие факторы, наличие которых критично для развития.

Нашим коллективом разработан оригинальный метод получения реципиентного цитопласта при помощи остросфокусированного фемтосекундного лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона. В сочетании с методом поляризационной микроскопии, мы разработали протокол энуклеации ооцитов, который не подразумевает флуоресцентного окрашивания, которое применялось в предшествующих работах. При помощи поляризованного света мы визуализировали веретено деления, и, ориентируясь на его расположение, проводили лазерное воздействие, за счет которого инактивировалась метафазная пластинка.

В работе в качестве объекта использовали ооциты мыши на стадии метафазы II, а для энуклеации – фемтосекундный лазер TETA (Avesta Project). Лазерное излучение заводили в инвертированный микроскоп Olympus IX71 и фокусировали на образец посредством объектива 60x (NA = 0.7). Параметры лазерного излучения: длина волны 1033 нм, частота – 100 Гц, энергия в импульсе – 46 нДж. Веретено деления визуализировали при помощи конденсера Olympus IX3-MLWCDA и объектива LUCPLFLN60x. Лазерное воздействие направляли в область веретена деления, перемещаясь по всему его объему посредством моторизованного столика.

Эффективность энуклеации оценивали путем окрашивания ооцитов витальным флуоресцентным красителем Hoechst 33342, который связывается с ДНК, с последующей визуализацией на конфокальном микроскопе Zeiss LSM 780. Эксперименты показали, что интенсивность люминесценции окрашенной ДНК в облученных образцах в среднем примерно в два раза меньше, чем в контрольных. Этого, тем не менее, оказалось достаточно, чтобы облученные в метафазную пластинку образцы потеряли способность к партеногенетической активации. При этом стоит отметить, что ооциты, облученные аналогичным образом в свободную от метафазной пластинки цитоплазму, развивались на уровне ооцитов контрольной группы – это говорит о том, что само по себе лазерное воздействие не несет существенного токсического эффекта.

Таким образом, фемтосекундная лазерная энуклеация ооцитов показала себя эффективным и малоинвазивным методом.

РНФ №21-75-10155.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ПРЯМОЙ И ОБРАТНОЙ МИГРАЦИИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

Е. В. Отставнова¹, Н. А. Безруков², Е. Н. Горшкова², С. Н. Плескова^{1, 2}

¹Нижегородский государственный технический университет им. П. Е. Алексеева, 603155, Нижний Новгород, ул. Минина, 24;

otstavnova.es@mail.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Хемоаттракция нейтрофилов при воспалении играет важную роль в удалении патогенов и начале процессов заживления. Понимание и управление этим процессом имеет большое значение для разработки новых стратегий лечения воспалительных заболеваний. Поэтому целью данной работы является создание и исследование системы миграции нейтрофилов *in vitro* под действием различных хемоаттрактантов и флуоресцентной микроскопии.

Для моделирования системы миграции, к краю чашки Петри (35 мм) с адгезионным покрытием прикреплялся контейнер на основе полимерной трубки. В качестве мембраны в основании трубки использовался диализный мешок (14 кДа) из регенирированной целлюлозы, герметично изолированный термопластиком Parafilm M. Нейтрофилы выделялись из периферической венозной крови здоровых доноров на двойном градиенте фиколла-тразографа ($\rho_1 = 1.077 \text{ г/м}^3$, $\rho_2 = 1.110 \text{ г/м}^3$), отмывались дважды (400g, 3 мин), дополнительно лизировались эритроциты 0,9% раствором NH_4Cl : клетки после выделения смешивались с 5 мл холодного раствора и инкубировались 10 минут (2°C), после чего суспензия доводилась до 10 мл стерильным ЗФР и клетки отмывались. Затем нейтрофилы ресуспендировались в 1 мл среды Хенкс-NEPES (pH 7,2-7,4). Для визуализации и подтверждения жизнеспособности клеток проводил окрашивание нейтрофилов флуоресцентным красителем 6-Карбокси-Н2DCFDA, который выступал в качестве индикатора продукции АФК. В качестве хемоаттрактантов использовались бактериальные культуры *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, фактор некроза опухоли альфа (TNF α), лейкотриен В4 (LTB4), липоксин А4 (LPA4), которые вносились дозатором в диализный мешок в количестве 20 мкл с конечной концентрацией бактерий – $2 \cdot 10^7$ кл/мл, TNF α – 0,5 нг/мл, Лейкотриена В4 – 0,2нМ, Липоксина А4 – 0,2нМ. Далее проводили микроскопирование с увеличением $\times 10$ на инвертированном микроскопе Zeiss Axio Vert. A1 на протяжении 60 мин, с интервалом в каждые 2 мин. Визуализация результатов проводилась с помощью программного обеспечения ZEN 2 lite.

В результате работы были построены и посчитаны суммарные векторы перемещения нейтрофилов, а также оценена эффективность движения последних относительно хемоаттрактанта, согласно полученным данным был сделан вывод, что ни один из хемоаттрактантов не активировал миграцию нейтрофилов в сторону камеры, однако, в результате наблюдения, было продемонстрировано, что под действием всех хемоаттрактантов (за исключением LPA4) происходит активация нейтрофилов, сопровождающаяся выделением внутриклеточных АФК, о чем свидетельствует наличие флуоресценции нейтрофилов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-74-00004.

ПОИСК МИШЕНЕЙ NEUROD И ИХ ВКЛАД В НАВИГАЦИЮ АКСОНОВ МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА

А. Д. Охальников¹, М. С. Гавриш¹, С. А. Тутукова¹, В. С. Тарабыкин²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
a11o20@mail.ru

²Институт клеточной биологии и нейробиологии Университетского медицинского комплекса Шарите, 10117, Берлин, Германия, ул. Шаритеплац, 1

Агенезия мозолистого тела является одним из врожденных пороков развития, причиной которого является нарушение формирования коры головного мозга. В регуляции миграции нейронов и аксональной навигации участвуют транскрипционные факторы, среди которых особое место занимают представители семейства NeuroD. Показано, что у мышей с двойным NeuroD2/6 и тройным NeuroD1/2/6 нокаутами отсутствует оформленное мозолистое тело, а комиссуральные аксоны растут хаотично. Для идентификации мишеней транскрипционных факторов NeuroD, нашими коллегами был выполнен анализ транскриптома данных мышей в комбинации с ChIP-Seq. Результаты выявили резкое снижение экспрессии ряда генов, среди которых был Kcnc3, чья экспрессия в мутантных мышках была снижена ~ на 90%.

Ген Kcnc3 кодирует субъединицу потенциал-зависимого калиевого канала нейронов головного мозга, роль которого в формировании неокортекса до сих пор неизвестна. Показано, что другая субъединица (Kcnc4) из этого семейства белков участвует в росте и навигации аксонов спинного мозга. Поэтому мы предположили, что kcnq3 выполняет схожую функцию в центральной нервной системе.

Для установления роли Kcnc3 в формировании мозолистого тела мы разработали несколько вариантов генетических конструкторов для CRISPR/Cas9 регулируемой инактивации гена Kcnc3 в мышечных эмбрионах линии C57BL/6 методом in utero электропорации (IUE). В качестве контроля для IUE использовали конструктор на основе CRISPR/Cas9 без gRNA. Электропорацию неокортекса проводили на сроке e13,5 с последующей изоляцией головного мозга на стадии e18,5. После чего получали фронтальные криосрезы коры и выполняли иммуногистологическое окрашивание.

Результаты эксперимента показали, что у части нейрональных аксонов Kcnc3_KO происходят нарушения в навигации, они покидают пучок, не достигая средней линии. Более того, происходит задержка миграции, что отражается в процентном изменении соотношения Satb2/Scip2 клеток. Так количество Satb2+ клеток уменьшается до 40% по сравнению с контролем (90%), а процент Scip2+ клеток напротив увеличивается с 2,5% до 15%.

Вероятно, kcnq3 не только принимает участие в навигации и росте аксонов, формирующих мозолистое тело, но и участвует в определении клеточной судьбы и миграции нейронов во время эмбрионального развития.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 22-14-00232.

ПОЛИМЕРНЫЕ КАПСУЛЫ ДЛЯ ВКЛЮЧЕНИЯ ГИДРОФОБНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Т. Н. Паллаева¹, Р. А. Акасов¹, Д. Б. Трушина¹, Т. В. Букреева¹, Е. А. Марквичева²

¹НИЦ «Курчатовский институт» Курчатовский Комплекс «Кристаллография и Фотоника» (КККиФ), Москва, 119333, Ленинский проспект, 59;

borodina@crys.ras.ru

²Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Разработка микро- и наносителей для инкапсулирования и доставки гидрофобных препаратов является приоритетной задачей современной биомедицины. Основное внимание ученых сфокусировано на повышении растворимости препаратов, обеспечении его адресной доставки и пролонгированного/контролируемого высвобождения. Микрокапсулы на основе полисахаридов могут быть получены в одну стадию с помощью низкочастотной ультразвуковой обработки. Достоинства такого типа носителей заключаются в простоте их получения, биосовместимости и биodeградируемости используемых материалов, а также их стабильности в широком диапазоне рН. Цель работы заключалась в изучении влияния параметров ультразвука и условий проведения процесса на формирование нано- и микрокапсул на основе прямых эмульсий.

С помощью низкочастотной ультразвуковой обработки были получены полимерные микрокапсулы со структурой «оболочка-ядро», где оболочка – это смесь полисахаридов (хитозан или диэтиламиноэтил (ДЭАЭ) декстран и ксантановая камедь), а ядро – соевое масло с растворенным в нем красителем, тимохиноном или биоцидом.

Были получены полисахаридные капсулы в широком диапазоне размеров (от 350±50 нм до 7500±500 нм) путем изменения соотношения масло/вода (от 1:300 до 1:1.5). С помощью сканирующей электронной микроскопии изучена морфология капсул, и показано, что полученная система имеет структуру ядро-оболочка с толщиной оболочки 7-10 нм. Поверхность капсул была модифицирована полимерами (поли-L-лизин, полиаллиламин гидрохлорид), магнитными частицами и наночастицами серебра и золота путем технологии послойной электростатической адсорбции.

Синтезированные контейнеры были использованы для инкапсулирования как гидрофобных препаратов биомедицинского назначения (тимохинон, витамин Е, паклитаксел), так и биоцида широкого спектра действия (ДСОИТ). Была показана высокая степень инкапсулирования компонентов (более 90%), а также исследована кинетика их высвобождения.

С целью исследования возможности использования полисахаридных контейнеров, содержащих тимохинон, в качестве носителей противоопухолевых препаратов, были проведены эксперименты в модели *in vitro*. Показано, что тимохинон, включенный в микроконтейнеры, подавлял рост клеток мышечной меланомы М3 (IC₅₀ 150 мкг/мл), при этом не нагруженные тимохиноном микроконтейнеры (контроль) не оказывали цитотоксического действия на клетки. Исследование методом проточной цитофлуориметрии показало быструю (уже в течение 5 минут) интернализацию микроконтейнеров в клеточную мембрану, причем скорость этого процесса зависела от размера микроконтейнеров и заряда их поверхности.

Таким образом, показано, что разработанные полисахаридные микрокапсулы являются перспективными носителями для доставки жирорастворимых препаратов.

ВЛИЯНИЕ РАЗМЕРА КАЛЬЦИЙ-СОДЕРЖАЩИХ ЧАСТИЦ И НАЛИЧИЯ ПОЛИМЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ НА ИХ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ЦИРКУЛЯЦИИ *IN VIVO*

*Т. Н. Паллаева*¹, *О. Ю. Грязнова*², *Д. А. Еуров*³, *Д. А. Курдюков*³, *В. К. Попова*⁴, *Е. В. Дмитриенко*⁴, *Д. Б. Трушина*^{1, 5}

¹НИЦ «Курчатовский институт» Курчатовский Комплекс «Кристаллография и Фотоника» (КККиФ), Москва, 119333, Ленинский проспект, 59;

trushina.d@mail.ru

²Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Макляя, 16/10

³ФТИ им. А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, 194021, ул. Политехническая, 26

⁴Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

⁵Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8

Успешность локальной доставки препаратов к опухоли является одним из определяющих факторов при терапии онкологических заболеваний. Применение pH-чувствительных носителей с противоопухолевым препаратом в комбинации с использованием сосудистых аномалий опухолей (EPR-эффекта) привлекает особое внимание исследователей. Высвобождение из таких носителей будет происходить в микроокружении опухолей, которое имеет слабокислый pH. Частицы CaCO₃ являются перспективным pH чувствительным носителем. К преимуществам таких частиц можно отнести высокую пористость, хорошую биосовместимость и низкую токсичность. Фармакодинамические характеристики накопления частиц в опухолевой ткани зависят от их размера, формы, заряда и природы поверхности. Варьирование условий синтеза частиц CaCO₃ позволяет получать частицы с необходимыми характеристиками. В данной работе были получены частицы карбоната кальция в диапазоне размеров от 50 до 500 нм.

В работе была изучена загрузка и динамика высвобождения доксорубина при нейтральном и кислом pH в зависимости от замера и структуры частиц карбоната кальция. Методом электростатической адсорбции поверхность частиц была модифицирована муцином и комбинацией муцина с диглицидиловым эфиром полиэтиленгликоля (ПЭГ-ДГЕ). Это позволило оптимизировать гидродинамические характеристики суспензий частиц в биологических жидкостях, а также снизить опсонизацию. Модификация поверхности частиц ПЭГ-ДГЕ позволила значительно снизить накопление 500 нм частиц ватерита в печени, почках, селезёнке и мышцах при внутривенно введенных частиц в здоровых лабораторных животных. Было изучено биораспределение частиц на опухолевой модели рака толстой кишки СТ-26, привитой подкожно. Было показано, что 50 нм частицы накапливаются в органах животных более интенсивно, по сравнению с 200 и 500 нм образцами. Частицы размером 200 и 500 нм имеют похожие фармакокинетические профили в здоровых тканях и опухоли. Это может свидетельствовать о том, что параметры циркуляции и проникновения в органы животного слабо меняются при изменении размеров в данном диапазоне. Было показано, что ПЭГилированные 50 нм частицы эффективнее других накапливаются в опухоли

Работа поддержана грантом РФФИ № 21-74-10058.

РЕКОГНОСЦИРОВОЧНЫЙ АНАЛИЗ СУКЦЕССИОННОЙ ДИНАМИКИ ФИТОБИОТЫ ОСТРОВНЫХ ЭКОСИСТЕМ РЕК ВОЛГИ И ОКИ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

А. А. Панкратов, А. В. Чкалов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
aleha.pankratov.1998@mail.ru

Внимание островным экосистемам уделялось учеными с давних пор, однако концентрировалось преимущественно на морских островах, тогда как острова водотоков изучены значительно слабее. Целью данной работы является предварительный анализ динамики фитобиоты островов течения рек Волга и Ока в черте города Нижнего Новгорода.

В период с июня по сентябрь 2023 года было исследовано одиннадцать островов. В ходе работы зафиксированы метрические характеристики островов (длина, ширина), выполнены геоботанические описания типичных растительных сообществ на стандартных пробных площадях, составлен список встреченных видов для каждого острова. Проведен анализ фитобиоты по стандартной методике.

Анализ накопления видового богатства показал, что выявляется достоверная зависимость количества зарегистрированных видов от площади (линейная аппроксимация логарифмированных показателей количества видов (N) от площади острова (S)): $\lg N = 0,65 + 0,21 \times \lg S$ ($R^2 = 0,66$). Очень примечательным фактом является выявленная зависимость между числом найденных видов и длиной острова (L): $N = 15,43 + 0,04 \times L$ ($R^2 = 0,99$). С учетом недостаточности у нас данных по флорам крупных островов достоверность данной зависимости требует уточнения, при этом, с учетом того, что длина острова характеризует процесс его намыва течением, т.е. островной ландшафтогенез, выявленная тенденция действительно может отражать специфику речных островных экосистем.

Первичный анализ списков фитобиоты позволил выявить по меньшей мере три размерных группы островов, отличающихся по показателям фитобиоты: крупные (Кр, более 20 тыс. м²), средние (Ср, 2 тыс. – 20 тыс. м²), малые (Мл, до 2 тыс. м²). Для Мл характерно: высокая доля гигрофитов (22%; здесь и далее приводятся средние арифметические), против 14% у других; и большая доля евразийских видов (51% против 36 и 40% у Кр и Ср). Для Ср характерна высокая доля видов травянисто-болотной свиты (23%), тогда как на Кр и Мл она существенно более низкая (11 и 16% соответственно); доля стержнекорневых видов выше (10% против 6% у Кр и Мл), а однолетников, напротив, ниже: 5% против 12 и 17% у Кр и Мл, соответственно. Показательно отсутствие короткокорневищных (против 6% у Кр и Мл) и бореальных видов (против 4 и 5% у Кр и Мл, соответственно). Доля видов аллювиально-травянистой свиты от Кр к Мл растет (от 9% до 16%), а доли видов бореально-ивняковой, луговой и березняковой свит стабильны.

Таким образом, прослеживаются закономерности в формировании видового разнообразия островных экосистем, в том числе, его специфичность на разных этапах ландшафтогенеза.

АКТИВНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКЕ У АГРЕССИВНЫХ И РУЧНЫХ НОРОК (*NEOGALE VISON*)

Э. В. Панова^{1,2}, С. Н. Калинина¹, А. В. Морозов¹, В. А. Илюха³, О. В. Трапезов^{4,5}

¹Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11;

elina.panova@yandex.ru

²Петрозаводский государственный университет, 185910, Петрозаводск Респ. Карелия, просп. Ленина, 33

³Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Борок Ярославской обл., 106

⁴Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

⁵Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

Отбор животных по поведению нацелен на создание агрессивных и дружелюбных по отношению к человеку линий. В ходе селекции могут меняться морфологические признаки, а также физиологические функции, в основе которых лежат перестройки метаболических путей. Важным аспектом биохимической адаптации к переменным условиям окружающей среды является изменение биосинтеза и активности ферментов. У хищных млекопитающих, в ходе эволюции приспособившихся к потреблению пищи, богатой белками и жирами, пищеварительная система имеет ограниченную способность к изменению ферментных цепей, однако показано, что при одомашнивании происходили определённые перестройки функции пищеварения у кошек и собак. Уровни некоторых гормонов, например, кортизола и тестостерона могут влиять как на проявление агрессивного/дружелюбного поведения, так и на пищеварительную функцию млекопитающих. Поскольку взаимосвязи между пищеварением, уровнями гормонов стресса и проявлением агрессивного и ручного типов поведения практически не исследованы, цель работы состояла в анализе активности пищеварительных ферментов в поджелудочной железе (ПЖЖ) и двенадцатиперстной кишки (12ПК) и определении уровней тестостерона и кортизола в плазме крови у агрессивных и ручных американских норок.

Объекты исследования – самцы американской норки (*Neogale vison*) (n = 40, возраст 11 месяцев) клеточного разведения (звероферма ИЦиГ СО РАН), взятые из 22-го поколения селекции по оборонительной реакции на человека. Животные были протестированы на оборонительную реакцию на человека согласно методике hand catch test. Активность пищеварительных ферментов определяли спектрофотометрически, концентрацию гормонов в сыворотке крови определяли методом ИФА. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statgraphics Plus. Статистически значимыми считали различия с $p < 0.05$.

Норки из агрессивной группы характеризовались более высокой активностью протеаз и липаз, тогда как у ручных животных преобладал амилолитический профиль активности пищеварительных ферментов. Уровни кортизола и тестостерона в плазме крови обеих групп не различались, но в группе ручных животных была выявлена отрицательная корреляционная зависимость данных гормонов. Среди агрессивных норок наблюдалась положительная корреляция между уровнем кортизола и активностью липазы 12ПК, а также отрицательная – между активностью амилаз ПЖЖ и 12ПК. В группе ручных норок была обнаружена положительная корреляционная зависимость между активностями липаз ПЖЖ и 12ПК.

Различия в активности пищеварительных ферментов у норок с агрессивным и доместифицированным поведением, которые мы обнаружили, возможно, обусловлены изменениями в генах ферментов и воздействием гормонов, связанных со стресс-реакцией.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (FMEN-2022-0003).

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В СЕЛЕ МЕХОВИЦЫ И ЕГО ОКРЕСТНОСТЯХ (САВИНСКИЙ РАЙОН, ИВАНОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Д. М. Пануев, Л. Ю. Минеева

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;
danila.panuev.02@mail.ru

Морфологический анализ является одним из основных в изучении лишайников и ключевым в понимании экологии и биологии этих организмов. Территория села Меховицы и его окрестностей была выбрана для места исследования в 2022-2023 гг. в качестве ранее не изучавшейся территории Ивановской области. Целью данной работы являлось проведение морфологического анализа видов лишайников, выявленных в селе Меховицы и его окрестностях.

До начала исследования, была проведена работа с карта-схемами изучаемой территории, по результатам её составлялись маршруты и в дальнейшем изучались различные биотопы и экосистемы, где проводились сборы различных образцов лишайников, которые упаковывались в специальные контейнеры и перевозились до места определения и последующего анализа в лаборатории.

Морфология лишайников разнообразна, существуют различные классификации биоморф лишайников, наиболее традиционная система делит все лишайники на три типа: накипные, листоватые и кустистые. В настоящее время применяют более детализированные подходы, например, классификация А.В. Лиштвы, позволяющая точнее оценить особенности строения таллома, представляющая из себя иерархическую систему, включающую отделы, типы, классы, группы.

В ходе анализа видовой принадлежности собранного материала, было выявлено 43 вида лишайников из 10 различных семейств, принадлежащих к классу *Lecanoromycetes* отдела *Ascomycota*.

После определения видовой принадлежности, виды лишайников были распределены по морфологическим типам, классам и группам. Ведущим морфологическим типом оказался плагиотропный – 53%; вторым по видовому разнообразию стал плагио ортотропный – 33%; третьим – ортотропный (14%). Среди плагиотропных лишайников класс листоватых оказался наиболее видоразнообразен – 37% от общего количества выявленных лишайников, включал 3 группы: рассечено-лопастные ризоидальные (25%), широколопастные ризоидальные (7%) и вздуто-лопастные неризоидальные (5%); класс накипных был выражен в меньшей степени (16%), включал в себя 2 группы: однообразнонакипные (14%), чешуйчатые (2%). Среди плагио ортотропных был выявлен класс бородавчато- или чешуйчато-кустистых, представленный двумя группами: кустисто разветвленные (19%) и шило- или сцифовидные (14%). Среди ортотропных был выявлен класс кустистых лишайников с двумя группами: кустистые повисающие (12%) и кустистые прямостоячие (2%).

Таким образом, можно сделать вывод, что на изучаемой территории было выявлено наличие 43 видов лишайников, большинство из которых имели плагиотропный морфологический тип строения (53%); среди них самым представленным классом оказался листоватый (37%); самой большой группой – рассечено-лопастные ризоидальные (25%).

АНАЛИЗ РАЗВИТИЯ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

С. Н. Панфилов, Д. Е. Шмакова, А. А. Горохова, И. В. Балалаева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

pan.officiall@outlook.com

Механизм развития клеточной гибели в ответ на фотодинамическое воздействие зависит от множества факторов, в том числе, от интенсивности воздействия. Целью данного исследования стал анализ развития гибели опухолевых клеток в ответ на фотодинамическое воздействие разной интенсивности.

В качестве объекта исследования выступала линия эпидермоидной карциномы человека A431-Casper3-BG, трансфицированная генетически-кодируемым флуоресцентным сенсором Casper3-BG, имеющим специфичность к активности каспазы-3. Принцип работы данного сенсора основан на Фёрстеровском переносе энергии (FRET). В состав биосенсор Casper3-BG входит два флуоресцентных белка: TagBFP (донор) и TagGFP2 (акцептор), которые соединены полипептидным линкером DEVD. Расщепление каспазой-3 линкера DEVD, находящегося между двумя флуоресцентными доменами, приводит к нарушению FRET и изменению соотношения флуоресценции акцептора и донора. В качестве фотосенсибилизатора в работе был использован фотосенсибилизатор тетра(тиофен-3-ил)тетрацианопорфиразин, содержащий катион палладия в центре макроцикла – PdbiPh. Клетки исследуемой линии предварительно инкубировали с PdbiPh в концентрации $5 \times IC_{50}$ и $10 \times IC_{50}$ (3,9 и 7,8 мкМ соответственно). Развитие клеточной гибели исследовали путем регистрации сигнала сенсора методом конфокальной микроскопии (Axio Observer Z1 LSM-710). Для определения клеток с нарушением целостности мембраны в среду вносили йодид пропидия (PI). В результате исследования была получена дозовая зависимость количества живых клеток через 4 и 12 часов после фотодинамического воздействия в дозе 20 Дж/см². Были выделены следующие группы клеток: «живые» клетки без активированной каспазы-3 или окраски PI, «каспаза+PI-» – клетки, в которых активировалась каспаза-3, «каспаза-PI+» – клетки, окрашенные только PI, «сенсор-» – клетки без сигнала сенсора.

При концентрации PdbiPh $5 \times IC_{50}$, спустя 4 часа после облучения, группа «живых» составляла 75%, а через 12 часов 70%. При воздействии высокой интенсивности $10 \times IC_{50}$ процент «живых» через 4 часа после облучения составлял примерно 30%, а через 12 часов «живых» не отмечали. Стоит отметить, что при высокой интенсивности воздействия была зарегистрирована выраженная клеточная гибель: через 4 часа после облучения группа клеток «каспаза-PI+» составляла более 60%, а спустя 12 часов после облучения более 80% от общего числа популяции.

Таким образом, фотодинамическое воздействие высокой интенсивности на клетки линии A431-Casper3BG с PdbiPh приводит к развитию в основном каспаза-3-независимых путей гибели клеток.

СРАВНЕНИЕ БИОРЕЗОРБЦИИ МАГНИЕВЫХ СПЛАВОВ AZ31 И MGZNSA В РАСТВОРЕ РИНГЕРА

Е. Е. Парфенова¹, Е. В. Парфенов²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
katee.parfenova@mail.ru

²Уфимский университет науки и технологий, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32

При заживлении переломов порой возникает необходимость в установке имплантатов для контроля положения срастающихся обломков. Биорастворимые имплантаты могут облегчить выздоровление: еще одно оперативное вмешательство (по извлечению имплантата) не потребуется. Перспективными материалами для таких имплантатов являются магниевые сплавы.

Целью исследования было сравнить скорость биорастворения магниевых сплавов: экспериментального биосовместимого MgZnCa и конструкционного AZ31.

Были взяты по 3 образца каждого из сплавов: AZ31 (94,8% Mg, 4,5% Al, 0,5% Zn, 0,2% Mn), MgZnCa (99,6% Mg, 0,2% Zn, 0,2% Ca). Образцы помещались в раствор Рингера (6,5 г/л NaCl, 0,42 г/л KCl, 0,25 г/л CaCl₂), где моделировалось их биорастворение. Производился мониторинг веса каждого образца на аналитических весах A&D GR-200 (точность взвешивания 0,1 мг), фотографировался внешний вид и обновлялся раствор.

Во время первых двух недель средняя скорость растворения MgZnCa составила 0,830 мг/(см²*день). В растворе Mg²⁺ образовывал гидроксид, который растворяли ионы Cl⁻, высвобождая еще реакционноспособный Mg²⁺. С 16-го дня скорость растворения заметно увеличилась. Стоит полагать, возникла зернограничная коррозия (интерметаллиды в сплавах образовали гальванопары: анодная матрица Mg передавала электроны катодным вторым фазам, образуя продолжающие растворение Mg²⁺). Ее средняя скорость составила 9,985 мг/(см²*день). Впоследствии образцы MgZnCa к 24-му дню в среднем весили лишь 10,32% от первоначального веса. По прогнозам, все образцы растворились бы к 25 дню.

Применительно к коррозии сплава AZ31 образцы к концу 24 дня весили в среднем 98,5% от первоначального веса, существенного увеличения скорости, свидетельствующей о проявлении зернограничной коррозии, не наблюдалось достоверно определить срок растворения образцов проблематично. Средняя скорость биорезорбции составила 0,068 мг/(см²*день).

Сплав MgZnCa растворился существенно быстрее, чем AZ31, с проявлением зернограничной коррозии. Поверхность AZ31 в растворе была защищена нерастворимым Al(OH)₃, затруднявшим образование гальванопар и трещин.

Конструкционный сплав AZ31, будучи устойчивым в растворе Рингера, может использоваться как обычный имплантат в травматологии. Экспериментальный биосовместимый сплав MgZnCa – перспективный кандидат на роль биоразлагаемого имплантата. Требуются дальнейшие исследования по улучшению устойчивости этого сплава, в частности в области коррозионностойких покрытий.

**ВЛИЯНИЕ ФОТОКОНВЕРСИОННОГО ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ ОКСИДА
ГРАФЕНА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ *SOLANUM LYCOPERSICUM* В ТЕПЛИЦАХ**
***М. О. Пасхин*¹, *Д. В. Яныкин*^{1, 2}, *Д. В. Казанцева*¹**

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38;
pashin.mark@mail.ru

²Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пущино Московской обл., ул. Институтская, 2

Благодаря своим свойствам оксид графена (ГО) имеет широкий спектр применения: электроника, литий-ионные аккумуляторы, абсорбенты, катализаторы (в том числе фото- и электрокатализ) и др. Большой интерес представляют люминесцентные свойства оксида графена. В отличие от графена, который не способен к фотолюминесценции, материалы на основе ГО люминесцируют в широком диапазоне (350-1250 нм), при этом длина волны излучения определяется степенью окисления графена, что позволяет получить ГО с заданными фотолюминесцентными свойствами. Поэтому мы решили создать и протестировать фотоконверсионное покрытие, содержащее в качестве единственного люминофора ГО (ФКП-ГО).

В результате исследования свойств наночастиц ГО было установлено, что их средний размер составляет 27 ± 5 нм. После нанесения данных частиц в составе фторполимерного лака на стекло, изучались люминесцентные свойства, полученного покрытия. Выявлено, что данное покрытие характеризуется наличием двух пиков люминесценции. Первый пик в красной области (540-610 нм), второй пик в синей области (440-490 нм). Люминесценция ФКП-ГО в этих диапазонах индуцировалась ультрафиолетовым излучением до 400 нм. После эксперимента с растениями мы обнаружили, что интенсивность люминесценция в красной области значительно снизилась, а люминесценция в синей области увеличилась.

Полученное ФКП стимулировало рост и развитие растений томата (*Solanum lycopersicum*). Площадь листовой поверхности и высота растений увеличились на 37% и 15% соответственно. Кроме того, значительно улучшались показатели газообмена (интенсивность ассимиляции, транспирации и эффективность использования воды) и фотохимические показатели (эффективный квантовый выход люминесценции в фотосистеме II и I, скорость переноса электронов через фотосистему II и нефотохимическое тушение).

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что интенсификация фотосинтеза и показателей газообмена у растений, выращенных под ФКП-ГО, привела к увеличению роста растений.

РАЗРАБОТКА НОВОГО ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОДХОДА НА ОСНОВЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТЕОАРТРОЗА ЛОШАДЕЙ

К. Н. Патькова, А. М. Аймалетдинов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
pkn2000@mail.ru

Ключевые слова: остеоартроз, хондроциты, внеклеточные везикулы.

Остеоартроз – прогрессирующее заболевание суставов, характеризующееся поражением всех компонентов сустава – хряща, субхондральной кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы околоуставных мышц.

Внеклеточные везикулы – биологические мембранные объекты, имеющие размеры <1000 нм, транспортирующие многие биологически активные молекулы, а также способные выполнять многие биологические функции и обеспечивать межклеточные взаимодействия.

В настоящее время внеклеточные везикулы вызывают большой интерес в связи с обнаружением их участия во многих биологических процессах таких как межклеточные взаимодействия в ходе эмбрионального развития и иммунных реакций, клеточная адгезия, рост и метастазирование опухолей.

Цель данного исследования – оценка влияния микровезикул на хондроциты при их сокультивации в тестах *in vitro*.

Материалы и методы

Хондроциты были выделены из хрящевой ткани крысы и охарактеризованы при помощи иммуногистохимии. Микровезикулы были получены из мезенхимных стволовых клеток лошади, которые были выделены из жировой ткани. Получение клеточного материала проводили в ветеринарной клинике Казанского ипподрома. Оценка влияния микровезикул проводили при помощи нескольких тестов. Слияние микровезикул исследовали при помощи окрашивания клеток и везикул липофильными красителями Did и Dio. Миграцию клеток оценивали методом царапин. Влияния микровезикул на жизнеспособность культуры хондроцитов оценивали при помощи MTS-теста.

Результаты исследований

Проведенные исследования показали, что микровезикулы из МСК лошади проникали в мембрану хондроцитов, о чём свидетельствуют конфокальная микроскопия и проточная цитометрия. Метод царапин показал, что микровезикулы улучшают миграцию хондроцитов. Через 36-48 часов царапины при применении микровезикул уменьшались на 45-46%. В контрольных лунках уменьшение составляло 32%. Через 72 часа царапины в контрольных и опытных лунках полностью зарастали клетками. Результаты MTS-теста показали, что микровезикулы не оказывали достоверного влияния на жизнеспособность хондроцитов.

Проведенные тесты показали, что сокультивация микровезикул с хондроцитами положительно влияет на жизнеспособность и миграцию клеток.

Исследования были проведены при поддержке РНФ 23-26-00158.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ПУТЕЙ ПЕРЕДАЧИ КАЛЬЦИЕВЫХ СИГНАЛОВ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ СОСТАРЕННЫХ АСТРОЦИТАХ *IN VITRO*

А. М. Пахомов, М. И. Кривонос, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
science_pat@mail.ru

Старение является основным фактором риска развития большинства распространенных нейродегенеративных заболеваний, в том числе болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. В последнее время большой интерес исследователей вызывает изучение возрастных изменений не только нейронов, но и глиальных клеток, в частности астроцитов. Характеристики активности астроцитов в стареющем мозге еще недостаточно изучены, поэтому целью нашей работы стало изучение функциональной кальциевой активности астроцитарных культур при моделировании старения *in vitro*.

Объектом исследования явились первичные моноастроцитарные культуры коры головного мозга, полученные от новорожденных мышат (P1-P6) линии C57BL/6. Регистрация динамики кальция проводилась методом флуоресцентного кальциевого имиджинга. Активность «молодых» культур регистрировалась на 21 день культивирования (DIV), «старых культур» – на 150-157 DIV. Полученные данные были обработаны в программе Astrocyte Laboratory (свид. о госрегистрации 2021612870 от 25.02.2021), где было произведено подавление шума.

Между парами соседних пикселей полученного видеоряда построены корреляции покадрового изменения интенсивности. Выявлено, что есть несколько корреляционных портретов, характеризующих связь между пикселями, в частности точка, линия, облако и две пересекающиеся линии. Например, линейный портрет, свидетельствует о хорошей проводимости сигнала между данными точками, обычно расположенными в отростках клеток. Множество таких точек показывает работу сетевой межастроцитарной кальциевой сигнализации. Астроцитарная сеть формируется межклеточными щелевыми контактами. У культур молодых астроцитов имеются обширные области, относящиеся к линейному классу. Портрет, представляющий собой две пересекающиеся линии, как правило, имеют пары точек в области цитоплазмы и вдоль отростков клеток. Он может говорить о двух чередующихся состояниях в разные моменты времени, что может обеспечиваться нелинейным, меняющим свои свойства участком. Это может быть связано с работой кальциевых каналов P2XR на плазматической мембране и IP3R2 на ЭПР.

Таким образом, для каждой точки был рассчитан тип и характеристики её связи с соседними, образующие матрицу связи. Был произведён подсчёт количества связей каждого типа для всех культур, в результате чего установлено, что физиологическое старение приводит к снижению количества связей линейного типа, что может свидетельствовать об изменении характера межастроцитарной кальциевой сигнализации, $p \leq 0.0053$. Также снижается количество связей, портрет которых образован двумя пересекающимися линиями, $p \leq 0.048$. Предложенный метод может быть также полезен для улучшения разрешения изображения при визуализации клеточных культур и восстановления дополнительной информации о внутриклеточных процессах и клеточной морфологии.

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

СОЗДАНИЕ ЭКОСИСТЕМ НА ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТВАЛАХ В ЗАПАДНОЙ ЯКУТИИ

А. В. Перевалова, П. С. Егорова, Т. С. Коробкова

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, 677000, Якутск, просп. Ленина, 41;

kora.gutya@mail.ru

Самозаращение отвалов алмазодобывающей промышленности в Западной Якутии происходит медленно из-за неплодородности грунта и сильной его уплотнённости. Внесение вскрышных пород с сочетанием нейтрализации токсического действия солей органоминеральными удобрениями, разрыхлением грунта песком, подбором солеустойчивых, обладающих быстрым ростом растений, может ускорить рекультивацию.

Опыты проводились на опытно-промышленных участках отвалов Удачинского ГОКа «Алроса» площадью – 500 кв. м. на горизонтальных поверхностях и откосах в период 2017-2019 гг. на отвале «Северный», 2023 г. – отвале «Южный».

Для достижения цели исследования, формирование естественных экосистем на нарушенных территориях, поставлены задачи: подбор растений аборигенной и инорайонной флоры, отличающихся «агрессивным» поведением, позволяющим за 3-4 года захватить как можно больше площади; подбор удобрений без внесения плодородных почв; мониторинг онтогенеза, проективного покрова травостоя, скорости захвата территории.

Были высеяны семена травосмеси из: ломкоколосника ситникового, ячменя гривастого, змееголовника поникшего, пустырника малого, смеси семян подорожников в равных пропорциях в 5 вариантах опыта с NPK (диаммофоска). Самые низкие показатели были на контроле без внесения песка, удобрений, проективное покрытие (пп) 10%. В опыте с длиннокорневищными растениями выбраны площадки на вскрышных породах с речным песком и галькой с добавлением торфа. На второй площадке на тех же вариантах (NPK, песок, торф) высеяны зопник клубненосный, патриния скальная, ревень компактный, овсяница красная, змееголовник молдавский, пальчатый, поникший, очиток живучий, мак якутский, бурачок ленский, лапчатка снежно-белая, шизонепета многонадрезанная. На варианте с добавлением 50% торфа проросли все травы, кроме патринии, очитка, лапчатки, которые не взошли ни на одном варианте. Дали всходы спирея средняя и акация древовидная. Через 6 лет на отвале «Северный» сформировались травянистые ассоциации с единичными ивами, березой плосколистной, лиственницей даурской.

В 2023 г. эдификаторами будущих ценозов выбран житняк гребенчатый с участием ранее использованных злаков.

Доказана возможность использования вскрышных горных пород с посевом травосмесей и монокультурами, внесением минеральных, органоминеральных удобрений. При подборе растений для рекультивации перспективны растения автохтонной флоры; из двудольных растений: ромашка почти-полярная, змееголовник поникший, подорожник, птичий горец, донник, одуванчик, мята полевая; злаковые: бескильница Гаупта, тонкоцветковая, пырей ползучий, ячмень гривастый.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ ОЗОНОМ

П. В. Перетягин^{1,2}, А. Г. Соловьева^{2,3}

¹Поволжский государственный технологический университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3;

pperetyagin@internet.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Известно, что сердечно-сосудистая система – универсальный индикатор состояния организма. В связи с этим существенное место в ответе на термическую травму, способную вызывать формирование специфической патологии – ожоговой болезни, занимает перестройка деятельности данной функциональной системы.

Цель: изучить спектральные характеристики вариабельности сердечного ритма при термической травме и ее при коррекции озоном в эксперименте.

Материалы и методы: 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.

Регистрация ЭКГ производилась с использованием кардиографа Нейрософт-8/В (Иваново, Россия). При спектральном анализе ВСР использовались следующие показатели LF – мощность волн низкой частоты (мс^2), HF – мощность волн высокой частоты (мс^2), TP – общая мощность спектра (мс^2) и LF/HF – индекс вагосимпатического взаимодействия (усл. ед.).

Показано, что в группе 4 выявлена нормализация HF, а также LF-HF, наряду с активизацией TP и LF по сравнению с группой 1. Данные свидетельствовали об улучшении состояния сердечно-сосудистой системы.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МОРФОГЕНЕЗА ЛЕВО-ПРАВОГО ОРГАНИЗАТОРА В РАЗВИТИИ ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ *X. LAEVIS*
***Н. Д. Петри*^{1, 2}, *Н. Циколия*³, *С. В. Кремнёв*^{1, 2}**

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26;
petri1543@inbox.ru

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

³Гёттингенский университет им. Георга Августа, 37073, Гёттинген, Германия, ул.
Вилгельмсплац, 1

Асимметрия тела у амфибий устанавливается на стадии нейрулы за счёт работы лево-правого организатора на поверхности крыши гастроцели, имеющего мезодермальную природу. Морфология организатора хорошо известна на стадии поздней нейрулы, однако особенности его формирования на более ранних стадиях недостаточно изучены. Мы изучили динамику развития лево-правого организатора у эмбрионов *X. laevis* и показали, что функциональные области лево-правого организатора находятся на поверхности эмбриона ещё в начале гастрюляции и могут быть распознаны по экспрессии генов-маркеров ресничных клеток. В ходе гастрюляции эти области оказываются на поверхности гастроцели, отграничиваются от окружающих клеток энтодермы, в ходе нейруляции приобретают молекулярное и морфологическое сродство к лежащим под ними слоям мезодермы, а по окончании нейруляции входят в их состав, уходя с поверхности гастроцели.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АПИТОКСИНА И ГИПЕРТЕРМИИ НА НЕКОТОРЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

Д. С. Петров, М. А. Шабалин, М. А. Ветошкина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
david_petrov2001@mail.ru

В современном мире злокачественные новообразования занимают второе место по причине смертности среди населения, уступая сердечно-сосудистым заболеваниям. Сейчас интенсивно развиваются методы борьбы с онкологией, применяются новые комбинации лечения. В России эта проблема является актуальной в здравоохранении, ведь летальность заболевания на высоком уровне.

Гипертермия не может считаться стандартной терапией, актуально ее сочетанное применение в онкологической практике. А апитоксин в малых дозах повышает выносливость организма. Актуальность исследования заключается в чувствительности опухолевых клеток к высоким температурам, а пчелиный яд, как адаптоген, повышает устойчивость к гипертермии, поэтому интерес их совместного применения в терапии онкологических заболеваний растет.

Цель работы: исследование влияния апитоксина и гипертермии на некоторые гематологические показатели крыс-опухоленосителей.

Исследование проводилось на крысах-опухоленосителях линии Wistar. Опухолевый штамм РС-1, полученный в РОНЦ им. Н.И. Блохина, перевивали подкожно в паховую область, спустя 28 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 внутривентриально за 15 минут до гипертермии. Животных нагревали до 42, 43 и 44°C в термокамере. Температуру измеряли ректально. Животных разделили на группы, в каждой было по 5 крыс:

- 1 – интактная – без воздействий;
- 2 – контроль – с перевитой опухолью;
- 3 – животные с воздействием гипертермии (42°C);
- 4 – животные с воздействием гипертермии (43°C);
- 5 – животные с воздействием гипертермии (44°C);
- 6 – животные-опухоленосители с воздействием гипертермии (42°C);
- 7 – животные-опухоленосители с воздействием гипертермии (43°C);
- 8 – животные-опухоленосители с воздействием гипертермии (44°C);
- 9 – животные с воздействием апитоксина и гипертермии (42°C);
- 10 – животные с воздействием апитоксина и гипертермии (43°C);
- 11 – животные с воздействием апитоксина и гипертермии (44°C);
- 12 – животные-опухоленосители с воздействием пчелиного яда на фоне гипертермии (42°C);
- 13 – животные-опухоленосители с воздействием пчелиного яда на фоне гипертермии (43°C);
- 14 – животные-опухоленосители с воздействием пчелиного яда на фоне гипертермии (44°C).

Кровь забирали из подъязычной вены. Статистическую обработку проводили по критерию Стьюдента.

Результаты:

Использование пчелиного яда на фоне гипертермии увеличивало содержания эритроцитов, гемоглобина и гематокрита как у здоровых крыс, так и у крыс опухоленосителей по сравнению с показателями групп при моновоздействии гипертермии. Количество тромбоцитов снижалось при выраженном их увеличении в контроле. ЭФП эритроцитов снижалась во всех экспериментальных группах.

СИГНАЛЫ В КОРНЕ И ПОБЕГЕ КАРТОФЕЛЯ, ВЫЗВАННЫЕ ЗАСОЛЕНИЕМ

А. А. Печёрина, А. Д. Димитриева, М. А. Мудрилов, А. А. Брилкина, В. А. Воденев

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

pechyorinaa@gmail.com

Засоление – это системное стрессирующее воздействие, вызывающее осмотический, ионный и окислительный стресс. Засоление может вызывать не только отдалённые последствия, из которых главным для сельского хозяйства является снижение продуктивности растений, но и ранние – угнетение водного обмена и активности фотосинтеза. Ранние изменения физиологических процессов могут модулироваться различными сигналами и в том числе исходящими из корня.

У пятидневных растений картофеля сорта Невский при обработке раствором 200 мМ NaCl наблюдались ранние изменения активности фотосинтеза и транспирации: нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) повышалось через 15 минут, а индекс CWSI, отражающий изменение транспирации, снижался через 40 минут после добавления соли. Эти изменения происходили до накопления натрия и хлора в листьях. Снижение транспирации, происходившее после начала угнетения активности фотосинтеза, свидетельствует о том, что вероятно не снижение поступления CO₂, а индуцированный засолением сигнал из корня может приводить к начальным изменениям фотосинтеза.

В корне было выявлено несколько типов сигналов: повышение концентрации кальция, повышение рН цитозоля и изменение электрического потенциала клеток корня, выраженного гиперполяризацией. Все эти события происходили до снижения активности фотосинтеза, при этом изменение рН было Ca²⁺-зависимым. Однако из этих сигналов только сигнал кальция распространялся по побегу. Этот сигнал был натрий-индуцированный, потому что обработка сорбитолом не показывала распространение кальция по побегу. Также этот сигнал ингибировался лантаном – ингибитором кальциевых каналов. Кроме того, применение лантана угнетало вызванное засолением начальное повышение NPQ. Кроме кальциевого сигнала в побеге было зафиксировано распространение гидравлической волны, которая определялась по изменению толщины стебля. Гидравлические волны вызывались обработкой NaCl, KCl и сорбитолом, следовательно, они могли быть вызваны осмотической компонентой засоления. Вероятно, осмотическая компонента изменяла активность фотосинтеза посредством снижения транспирации. Таким образом, обе компоненты засоления, действующие на корень, с помощью распространяющихся в побег сигналов модулируют ранние изменения активности фотосинтеза.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-14-00388, <https://rscf.ru/project/22-14-00388/>.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЛИЯНИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ВАРИАБЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

П. А. Пирогова, Т. А. Здобнова, М. А. Гринберг, В. А. Воденеев

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
poly.h@mail.ru

В природе растения могут быть подвержены влиянию повышенного уровня ионизирующего излучения (ИИ), например, на загрязненных радионуклидами территориях. Известно, что ИИ может влиять на растения за счет модификации стрессовых сигналов, участвующих в формировании адаптаций. Вариабельный потенциал (ВП) – один из типов электрических сигналов, относящихся к стрессовым сигналам растений. В генерации и распространении ВП ключевую роль играют ионные каналы, H^+ -АТФаза и системы генерации активных форм кислорода (АФК). Распространение ВП приводит к системному ответу, реализующемуся за счет изменения активности ряда физиологических процессов. На сегодняшний день при действии ИИ показана модификация параметров ВП, вызванных локальным стрессом. Такое влияние возможно через изменение экспрессии генов, запускаемое АФК, генерирующимися при облучении.

Исследования проводили на растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта «Дарья» двухнедельного возраста. Хроническое облучение моделировали с помощью β -излучателя $^{90}Sr-^{90}Y$ (активность – 0.1 МБк, мощностью дозы – 31.3 мкГр/час). Изменение экспрессии генов оценивали методом ПЦР в реальном времени. Анализировали гены белков, участвующих в генерации и распространении ВП, по методике $\Delta\Delta Ct$. β -актин и гомолог белка слияния вакуолей использовали для нормализации. Регистрацию ВП проводили экстраклеточно $Ag^+/AgCl$ макроэлектродами на предварительно срезанных листьях. Раздражение наносили нагревом дистальной части листа до 65°C в ячейке с водой. Для ингибиторного анализа использовали 1 мМ хлорид тетраэтиламмония (ТЭА), блокирующий работу K^+ -каналов. Загрузку ТЭА обеспечивали инкубацией листа в вакуумной установке при давлении 0.2 атм.

В основе обнаруженного в ходе исследований возрастания амплитуды ВП может лежать изменение уровня экспрессии генов. В ходе работы подобраны праймеры для генов интереса: H^+ -АТФазы (НА1), НАДФН-оксидазы (RBOHs), анионных (CLC1 и ALMT1), калиевых (SKOR и AKT1) и кальциевых (TRP1) каналов. По результатам ПЦР в реальном времени определили относительное изменение экспрессии генов интереса у облученных растений. Обнаружено снижение уровня экспрессии гена K^+ -канала SKOR. Блокирование K^+ -каналов ТЭА у контрольных растений вызвало сходный с действием ИИ рост амплитуды ВП. Дополнительного прироста амплитуды у облученных растений не обнаружено. Следовательно, уменьшение экспрессии гена K^+ -канала может быть одним из механизмов изменения параметров ВП при действии ИИ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 23-24-00340.

ДОМИНИРУЮЩИЕ ВИДЫ ФИТОПЕРИФИТОНА ПЛАСТИКОВЫХ СУБСТРАТОВ КАРСТОВЫХ ОЗЕР ПУСТЫНСКОГО ЗАКАЗНИКА

Ю. М. Пичугина, Д. А. Журова, Е. Л. Воденеева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
yuliap201@gmail.com

В настоящее время проблема загрязнения водоемов пластиковым мусором имеет глобальное значение. На полимерном субстрате в водной среде образуется сообщество организмов-обрастателей, которое называется пластосферой. Пластосфера представляет собой биопленку на поверхности фрагмента пластика, состоящую из бактерий, грибов и водорослей.

Эксперимент был проведен в карстовых водоемах оз. Великое и Протоке Пустынского заказника. Каждая экспериментальная установка содержала один из 4 типов пластика – PET, LDPE, PP и PS, зафиксированных на глубине 30 см и 1 м от поверхности. За период с 7.07.23 до 25.07.23 было отобрано 59 проб фитоперифитона. Для подготовки проб налет счищали кистью и смывали в 5мл отфильтрованной воды из водоема. К доминирующим были отнесены виды с численностью или биомассой $\geq 10\%$ общей величины.

В фитоперифитоне пластиковых субстратов всего было выявлено 147 таксонов рангом ниже рода, относящихся к 8 отделам. В большинстве проб преобладали диатомовые водоросли (34-59%), второе место занимали сине-зеленые (15-35%), а третье – зеленые или харовые водоросли (7-25%). К доминирующим можно отнести 25 видов из 6 отделов.

Доминантами по численности в двух водоемах являются 8 видов водорослей из отдела *Bacillariophyta* и *Cyanobacteria*, 6 видов – *Chlorophyta*, по одному виду-доминанту из отделов *Charophyta*, *Ochrophyta*, *Miozoa* (*Dinophyta*). Наибольшей частотой встречаемости на разных типах пластика с разных горизонтов обладали *Aphanizomenon flos-aquae* (на 7 из 8 типах субстратов), а также виды родов *Oedogonium* и *Pseudoanabaena* (на 6 из 8 типах субстратов). В составе доминирующих видов отмечалось более высокая доля типичных обрастателей (бентосные формы, эпибионты) на субстратах в Протоке, тогда как в озере Великое в составе доминант высока доля планктонных и гетеротопных видов.

В первой половине эксперимента состав доминант на разных типах пластика в обоих водоемах был неоднороден. В отдельных пробах численность цианобактерий и диатомовых практически доходила до 100%. Доля зеленых (нитчатки из рода *Oedogonium sp.*) была максимальна на PS в Протоке (84%). Во второй половине эксперимента произошел рост численности пластинчатой харовой водоросли рода *Coleochaetae* для всех типов пластика (кроме PS): значения в обоих водоемах составляли до 84% в Протоке и 91% в Великом для PET.

Максимальное число видов водорослей было отмечено на полиэтилентерефталате (PET) как в озере Великом, так и в Протоке, минимальное – на полистироле (PS). В более эвтрофированном водоеме (оз. Великое) видовое богатство было выше по сравнению с Протокой. Видовое богатство зависело от уровня погружения субстратов: на поверхностных экспозициях (30 см от поверхности) число видов было больше относительно глубинных (1 м).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №23-17-00167.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ЧЕРНОПЛОДНОЙ РЯБИНЫ
(*SORBARONIA MITSCHURINII*) НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ *DROSOPHILA
MELANOGASTER***

Е. Ю. Платонова

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28;
Dega37@yandex.ru

Черноплодная рябина (*Sorbaronia mitschurinii*) – распространенное плодовое растение семейства Розовые, прародителем которого послужил наиболее известный североамериканский вид *Aronia melanocarpa*. В современном научном мире наибольшую популярность в исследованиях имеют плоды данного растения за счет содержания в них широкого спектра полифенолов (органические кислоты, флавоноиды, флавонолы, антоцианы, проантоцианидины), а также витаминов и минералов. Кроме того, известно, что яркие и насыщенно окрашенные фрукты, овощи и ягоды оказывают благотворное воздействие на функциональное состояние здоровья человека, предотвращая различные возраст-зависимые заболевания. В настоящее время исследования листьев черноплодной рябины в направлении улучшения физиологического состояния организма малочисленны, в основном представляют антимикробную и антиоксидантную, цитотоксическую активность. Поэтому целью нашего исследования было изучение влияния экстракта листьев черноплодной рябины (*Sorbaronia mitschurinii*) на выживаемость *Drosophila melanogaster* при содержании в различных условиях.

В результате нами было обнаружено, что применение экстракта листьев черноплодной рябины в разных возрастных группах и при различной длительности обработки (на протяжении всей жизни, 1-2 неделя, 4-5 неделя жизни) в концентрациях 0.01, 0.1, 1 и мг/мл вызывало снижение медианной и максимальной продолжительности жизни особей обоих полов плодовой мушки. В возрасте 10 сут была обнаружена повышенная устойчивость самцов к голоданию, но при этом снижена выживаемость в условиях гипертермии. В возрасте 33 сут выявлено снижение выживаемости самцов и самок к воздействию гипертермией. В условиях голодания обнаружено увеличение выживаемости особей обоих полов плодовой мушки.

Таким образом, выявлено, что этанольный экстракт листьев черноплодной рябины (*Sorbaronia mitschurinii*) проявляет разнонаправленный эффект на модельный организм – *Drosophila melanogaster*.

*Исследования выполнены в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геронпротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*» (№ 12204060022-1).*

ГЕМОПАРАЗИТЫ *HEPATOZOON SP.* В ПОПУЛЯЦИИ ОЗЕРНОЙ ЛЯГУШКИ *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* (PALLAS, 1771) УРБАНИЗИРОВАННОЙ ТЕРРИТОРИИ

В. Д. Плотникова, М. С. Какнаева, Е. Б. Романова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
psyche_medea@mail.ru

Благодаря эвритопности и особенностям жизненного цикла со сменой среды обитания, амфибии заражены многими видами паразитов и являются промежуточным и/или окончательным хозяином для большого количества гемопаразитов. Целью работы являлся анализ зараженности амфибий урбанизированной территории кровяными паразитами *Hepatozoon spp.* (*Hepatozoidea*, *Adeleida*, *Sporozoa*). Материалом служили сборы озерных (58 особей) лягушек оз. Силикатное (г. Нижний Новгород) в 2021–2023 гг. Дифференцировку лейкоцитарных клеток проводили на мазках крови под микроскопом Meiji Techno (Japan) с иммерсией (ув. х 1500). На основании лейкоцитарной формулы были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы (отн. ед). Учет внутриэритроцитарных гемопаразитов *Hepatozoon spp.* проводили на 500 эритроцитов каждой особи. Определяли: долю клеток с паразитами, экстенсивности инвазии; среднюю интенсивность инвазии; индекс обилия. Статистический анализ проводили методами непараметрической статистики с расчетом критериев: Уилкоксона (W), Манна-Уитни (U), критерия z (при сравнении долей), реализованными в пакете прикладных программ Statistica 8 и среде R. В динамике трехлетнего мониторинга выявлено изменение лейкоцитарного профиля крови лягушек: возрастание количества нейтрофилов ($W_{2022-2023} = 3.46$, $p = 0.0005$), снижение базофилов ($W_{2022-2023} = 2.38$, $p = 0.02$) и волнообразное изменение лейкоцитов ($W_{2021-2022} = 3.21$, $p = 0.001$; $W_{2022-2023} = 2.90$, $p = 0.004$). Динамика изменения лейкоцитарных индексов свидетельствовала о преобладающей роли неспецифических факторов иммунной защиты и недостаточном ресурсе адаптационных механизмов организма. Доля зараженных эритроцитов в целом по выборке оставалась постоянной в течение трех лет. При этом доля зараженных эритроцитов у самцов была выше по сравнению с самками ($z_{2022} = 2.66$, $p = 0.008$), самцами ($z_{2021-2022} = 2.67$, $p = 0.007$) и значительно ниже с самцами ($z_{2022-2023} = 2.98$, $p = 0.003$). За период наблюдений экстенсивность инвазии самок, самцов и в целом по выборке уменьшилась; средняя интенсивность инвазии – возросла; индекс обилия – для самок увеличился более чем в 2.5 раза, для самцов – не изменился. Площадь здоровых (243.52 ± 4.75 мкм²) и зараженных (233.71 ± 9.80 мкм²) эритроцитов была сопоставимой ($U = 1143.5$, $p = 0.51$), однако пораженные эритроциты были слегка удлинненными по сравнению со здоровыми клетками ($U = 789.00$, $p = 0.004$) и немного сплюснуты ($U = 574.00$, $p = 0.00003$). Лейкоцитарный профиль здоровых и зараженных особей статистически значимо не различался, что может быть связано с подавлением активности врожденного и адаптивного иммунитета токсикантами водной среды.

Благодарим к.б.н., доцента Г.А. Фадееву за помощь при определении гемопаразита.

ВЛИЯНИЕ ДОЗИРОВАННОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ В УСЛОВИЯХ ФАРМАКОТЕРАПИИ-БЛОКАТОРА СУБЪЕДИНИЦ $\alpha 2$ - δ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ НА СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ (NF-KB, STAT3), ОПОСРЕДУЮЩИЙ ФОРМИРОВАНИЕ ГЛИАЛЬНОГО РУБЦА, В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СПИННОМ МОЗГЕ КРЫСЫ

Е. А. Плотникова¹, Э. Ф. Давлетшин¹, Д. К. Сабиров¹, А. В. Тимофеева¹, Р. Р. Шигапова¹, Т. В. Агеева¹, Я. О. Мухамедишина^{1, 2}

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Liza.plotnikova0@gmail.com

Из-за нарастающего количества пациентов с хронической травмой спинного мозга (ТСМ), поиск эффективных терапевтических стратегий, нацеленных на борьбу с вторичными повреждениями в острой фазе болезни, является актуальным. В протоколах лечения ТСМ значительную роль имеет комбинация различных терапевтических подходов. Особый интерес вызывает реабилитационный двигательный тренинг в условиях фармакотерапии-блокатора субъединиц $\alpha 2$ - δ потенциал-зависимых кальциевых каналов, однако их механизмы требуют дальнейшего изучения.

В исследовании было оценено влияние дозированного двигательного тренинга и терапии фармакопрепаратом субъединиц $\alpha 2$ - δ потенциал-зависимых кальциевых каналов на сигнальный путь (Nf-Kb, STAT3), опосредующего формирование глиального рубца при мягкой контузионной ТСМ у 20 белых лабораторных крыс. Был выполнен количественный анализ экспрессии генов *il-6*, *stat3*, *cntf* в области травмы Th8 и на расстоянии 0,5 мм рострально и каудально от нее у животных на 28 сутки после реабилитации при фармакотерапии. Наблюдали снижение экспрессии гена *il-6* ростральнее области травмы. Уровень экспрессии гена *stat3* каудальнее области травмы был достоверно ниже при сочетании терапевтических стратегий. Это может указывать на склонность астроцитов в данной области к механическим повреждениям. Достоверное увеличение уровня экспрессии гена *cntf* рострально области травмы, может указывать на активацию сигнального пути JAK/STAT. По мере того, как посттравматические процессы становятся хроническими, влияние двигательной реабилитации в условиях фармакотерапии-блокатора субъединиц $\alpha 2$ - δ потенциал-зависимых кальциевых каналов расширяет представления о формировании глиального рубца, играющим ключевую роль в клеточных и молекулярных изменениях вторичной травмы.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЬЮГАТА ИНДИЕВОГО КОМПЛЕКСА ХЛОРИНА Е6 С ВАНДЕТАНИБОМ КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АГЕНТА ДЛЯ КОМБИНИРОВАННОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ И ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ *IN* *VIVO*

Е. М. Пначина, Л. В. Крылова, В. Ф. Отвагин, Н. С. Кузьмина, А. В. Нючев, И. В. Балалаева

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
el.pnachina@mail.ru

Перспективным подходом при лечении онкологических заболеваний является применение комбинированных схем лечения и мультимодальных препаратов. Считается, что использование нескольких терапевтических агентов с разными механизмами действия может привести к синергетическому эффекту и возможности использовать более низкие концентрации терапевтических средств. Ранее в ННГУ им. Н.И. Лобачевского был получен конъюгат металлокомплекса хлорина е6 с производным вандетаниба (In-CI-Chl-Vb). Хлорин е6 является фотосенсибилизатором и под действием света вызывает фотоиндуцированную клеточную гибель. Вандетаниб – низкомолекулярный таргетный препарат, который ингибирует рост опухолевых клеток за счет тирозинкиназной активности рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Целью данной работы явилась оценка эффективности конъюгата In-CI-Chl-Vb *in vivo*.

Исследования *in vivo* проводили на самках иммунодефицитных мышей линии Balb/c nude с подкожно привитой эпидермоидной карциномой человека А-431. Конъюгат вводили в хвостовую вену в дозе 8 мг/кг. Накопление и выведение конъюгата в опухоли и нормальных тканях оценивали методом флуоресцентного поверхностного имиджинга на уровне целого организма. Изображения получали до введения конъюгата и через различные временные промежутки после введения в течение 72 ч. Количественный анализ накопления конъюгата в нормальных и опухолевых тканях проводили путем элементного анализа по содержанию In с помощью масс-спектрометра и оценки флуоресценции органов и опухолей *ex vivo* через 4 и 24 ч после введения. Терапевтический эффект оценивали по динамике объема опухолевых узлов и значению коэффициента торможения роста опухоли (TOR).

В исследованиях *in vivo* выявлено, что исследуемый конъюгат накапливается в опухоли через 4 ч после инъекции. Отношение сигнала флуоресценции в опухоли и нормальных тканях составило 1,5. С помощью элементного анализа было подтверждено селективное накопление конъюгата в опухоли. Содержание In в опухоли в 3 раза превышало содержание металла в мышце. Сходные данные получены методом флуоресцентного имиджинга. Также основными органами накопления являлись печень, кожа, желудок, кишечник, легкие и сердце. Фотодинамическую терапию проводили через 4 ч после введения с помощью светодиодного облучателя, доза облучения составляла 50 Дж/см². Мониторинг размеров опухолевых узлов показал, что терапия с использованием конъюгата вызывает торможение роста опухоли. Коэффициент TOR на 6 сутки составил 56%.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности конъюгата индиевого комплекса хлорина е6 с вандетанибом и позволяют рассматривать его в качестве потенциального агента для комбинированной терапии EGFR-положительных опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант №21-73-10230).

НАНОЧАСТИЦЫ ЖЕЛЕЗА В МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ КАРТОФЕЛЯ Е. А. Подолян

Почвенный институт им. В.В. Докучаева, 119017, Москва, пер. Пыжевский, 7;
p.e.a.91@outlook.com

Микроклональное размножение как метод семеноводства картофеля направлено на формирование безвирусного посадочного материала, что особенно важно для проявления потенциальных качеств сорта. Вместе с тем существуют трудности получения крепких растений *in vitro*, готовых к высадке в грунт и имеющих высокий уровень приживаемости в дальнейших условиях *in vivo*.

В связи с этим требуется модернизация питательных сред для культивирования *in vitro*. В стандартной прописи Мурасиге-Скуга (МС) синтетические хелаты железа с использованием ЭДТА имеют низкую доступность для растений, что быть устранено путем производства нанодобрений.

Цель исследования – изучить влияние на рост и развитие эксплантов картофеля раннеспелого сорта столового назначения Арроу в культуре *in vitro* препарата на основе наночастиц железа (НЧ Fe). В качестве контроля использовали состав питательной среды МС, предполагающий содержание железа в хелатной форме.

Наночастицы железа были получены во ВНИИМЗ, методом «зеленого синтеза» с использованием экстракта зеленого чая. Зеленый чай имеет высокое содержание полифенолов, способных восстанавливать ионы металлов. Для получения экстракта измельченные до тонкодисперсного порошка листья коммерчески доступного зеленого чая торговой марки «Принцесса Ява. Традиционный» (ООО «НЕП», Россия) смешивались с H₂Odist. (5 г листьев на 100 мл воды). Полученная смесь находилась на водяной бане при температуре 80°C в течение 20 мин. После охлаждения экстракт был отделен от листьев через бумажный фильтр с помощью воронки Бюхнера. Для получения непосредственно наночастиц железа 0,1 М раствор FeSO₄·7H₂O смешивали с экстрактом чая в объемном соотношении 1:1 и инкубировали 24 часа при температуре 55°C. Для получения сухого порошка образованный после инкубации раствор выпаривался в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение нескольких часов, затем образовавшийся осадок измельчался в фарфоровой ступке.

Замена хелата железа в составе питательной среды на наночастицы железа в эквивалентной концентрации положительно отразилась на физиологических процессах культуральных растений картофеля. Так, длина побега увеличилась на 10% относительно контроля, длина корней – на 6%, сухая масса микрорастений – на 44%. Однако количество междоузлий у растений, выращенных на модернизированной питательной среде, не увеличилось по сравнению с контролем.

Таким образом, НЧ Fe в составе питательной среды целесообразно применять для развития более сильных растений *in vitro* с дальнейшим выращиванием их *in vivo* и получением микроклубней.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Государственного задания ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева» (тема № 0439-2022-0007. Разработать научно-теоретические основы применения новых биоудобрений и препаратов, предназначенных для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур, качества и безопасности получаемой продукции и сохранения плодородия осушаемых почв).

ПРИМЕНЕНИЕ ДАННЫХ ДИСТАНЦИОННОГО ЗОНДИРОВАНИЯ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ДЕРЕВЬЕВ ВНУТРИ ЛЕСНОГО МАССИВА (НА ПРИМЕРЕ ДУБРАВЫ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ННГУ ИМ. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО)

О. И. Поздеева, Н. И. Зазнобина, Н. А. Исайкин

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
olga.pozdeeva.03@mail.ru

Дистанционное зондирование – это метод получения информации о поверхности Земли без прямого контакта с ней с помощью специальных приборов, находящихся на беспилотных летательных аппаратах (БЛА). Они позволяют проводить мониторинг поверхности планеты в течение длительного времени и часто используются для изучения климатических изменений, наблюдения за погодными явлениями, чрезвычайными ситуациями природного и антропогенного характера, а также за трансформацией растительного покрова.

Одной из основных проблем, с которой сталкиваются люди при анализе древесного покрова с помощью БЛА, это сложность визуального различения деревьев, особенно при использовании снимков из космоса. Решение этой проблемы открывает множество возможностей для получения точной информации по количественному и качественному составу древостоя, которая необходима для успешного выполнения практических задач различных отраслей промышленности. Например, лесохозяйственные службы и предприятия по производству древесины смогут эффективнее планировать заготовку древесных ресурсов и управление лесопользованием.

Цель исследования: оценка сегментации крон лиственных деревьев с использованием полевого и дистанционного подходов на основе растровых данных.

Объектом исследования являлась пробная площадь с диаметром 100 метров в дубраве ботанического сада ННГУ. В соответствии с полевым руководством «Understanding i-Tree: Summary of Programs and Methods» проведена инвентаризация древесной растительности с окружностью стволов более 30 см, а также их визуальная ботаническая идентификация. С помощью геодезического спутникового приёмника PrinCe i30 была зафиксирована геопозиция каждого дерева.

В ходе работы на основе данных аэрофотосъёмки дубравы ботанического сада ННГУ, осуществленной на высоте 100 м, с использованием программы QGIS создана цифровая модель высот древесного полога. Далее, на основе данных полевой инвентаризации кроны деревьев, выделенных вручную. На следующем этапе цифровая модель была подвергнута процедуре сегментации с расчётом показателя F-score (RStudio), который позволяет оценить точность совпадений дифференцированных крон. В результате точность взаимно-однозначного соответствия между стволами деревьев и сегментами составила 40.3%. Это обусловлено как избыточной сегментацией, так и недосегментированностью цифровой модели, а также присутствием нераспознанных деревьев. Полученный результат сопоставим с подобными исследованиями зарубежных коллег, что говорит о возможности применения данного подхода для упрощения решения практических задач на локальном уровне.

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ НА УРОВЕНЬ ТРАНСГЛУТАМИНАЗЫ 1 В КЛЕТКАХ КОЖИ: ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ

А. С. Пономарев, Р. Р. Норкин, Л. М. Яныгина, Л. А. Хусаинова, А. А. Вовченко, А. А.
Ризванов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
ryan.wideray@icloud.com

Группа ихтиозов, в частности ламеллярного ихтиоза (ЛИ) характеризуется дефектом эпидермального барьера, приводящим к гиперкератозу, шелушению кожи и воспалению из-за дефицита фермента TGM1, вызванного мутацией гена TGM1. Осложнения ихтиозов могут препятствовать физическому развитию и росту ребенка из-за нарушения теплообмена в раннем детстве. Также повышается риск кожных суперинфекций и трансэпидермальной потери воды, что может привести к сепсису и смерти. Разработка терапии, основанной на использовании генетической модификации кодирующим геном трансглутаминазы 1 (TGM1) позволит восстановить уровень дефицитного фермента.

Исследовались 2 метода модификации: трансфекция плазмидным и трансдукция вирусом вектором. Эксперименты проводились на первичных фибробластах и клеточных культурах НЕК293Т, HaCaT для анализа экспрессии гена и белка. Эффективность разработанной конструкции была подтверждена в исследованиях *in vitro* с помощью ПЦР в реальном времени, Вестерн-блота и анализа на аннексин V.

Клеточные культуры фибробластов и НЕК293Т после модификации плазмидой rAAV2-TGM1 содержали $1,6 \cdot 10^{12}$ копий гена и $2,59 \cdot 10^{11}$ копий гена TGM1 на 1 мкг тотальной РНК (тРНК) соответственно. После трансдукции вирусом AAV2-TGM1 количество копий гена в фибробластах и НЕК293Т было $8,25 \cdot 10^7$ и $2,18 \cdot 10^6$ копии гена на 1 мкг тРНК соответственно. При этом при оценке жизнеспособности клеточной культуры НЕК293Т не наблюдалось различий в контрольной и опытной группе на 3 сутки, а на 7 сутки происходило снижение жизнеспособности на 8% в группе после трансдукции вирусным вектором.

Кроме того, была проведена ПЦР в реальном времени на гены, которые экспрессирующиеся преимущественно в базальных (цитокератин 5 (СК5)) и в дифференцированных (цитокератин 10 (СК10) и инволюкрин (*involucrin*)) кератиноцитах и первичных фибробластах. Так в опытной группе фибробластов после трансфекции экспрессия СК5 была снижена на 99%, гена *involucrin* на 94% и гена СК10 на 99% по сравнению с контрольной культурой. Трансфецированная культура кератиноцитов демонстрировала отсутствие изменения экспрессии гена *involucrine* и снижение гена СК10 на 99.991% меньше копий по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, было продемонстрировано, что модификация фибробластов и НЕК293Т с помощью методов трансфекции и трансдукции позволяет генерировать клеточные культуры, сверхэкспрессирующие ген TGM1. При этом происходит значительное изменение экспрессии генов СК5, СК10, *involucrine*.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2023-0011.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТРАНСГЛУТАМИНАЗЫ 1 *IN VIVO*: ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ДОСТАВКИ ГЕНА TGM1 С ПОМОЩЬЮ АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСА

А. С. Пономарев, Л. М. Яныгина, Р. Р. Норкин, Л. А. Хусаинова, А. А. Вовченко, А. А.
Ризванов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
AAVovchenko@stud.kpfu.ru

Введение: Ламеллярный ихтиоз (ЛИ), проявляет себя как нарушение эпидермального барьера, что приводит к гиперкератозу, шелушению кожи и воспалению, вызванным дефицитом фермента TGM1, обусловленного мутацией гена TGM1. Осложнения ихтиозов могут замедлить физическое развитие и рост ребенка из-за нарушения теплообмена в раннем детстве. Также возрастает риск кожных суперинфекций и потери воды трансэпидермальным путем, что, в свою очередь, может привести к сепсису и смерти. Разработка терапии, основанной на генетической модификации, направленной на коррекцию гена TGM1, предоставляет возможность восстановить уровень дефицитного фермента.

Материалы и методы: Использование генетической конструкции с использованием аденоассоциированного вируса для доставки гена TGM1 лабораторным животным. В первом опыте двум опытным животным вводился вирус, контрольному животному вводился физиологический раствор. Во втором опыте трем свиньям был введен вирус и были взяты пробы ткани животных на 1, 3 и 7 сутки соответственно. Эффективность конструкции определяли с помощью методов ПЦР в реальном времени, оптимизированного по кодонному составу гена TGM1, иммуногистохимии и гистоморфометрии.

Результаты: По первому опыту получили следующие результаты: с помощью ПЦР в реальном времени у контрольного животного копии мРНК гена TGM1 не обнаружались, в то время как у первой и второй опытной свиньи количество копий на 1 мкг общей РНК составило $1,5 \cdot 10^4$ и $0,5 \cdot 10^3$ соответственно. Данные гистоморфометрии показали, что введение вируса не привело к патологическим изменениям в эпидермисе животных. Данные иммуногистохимического анализа показали наличие флюоресценции к белку, кодируемому геном TGM1. Соотношение интенсивность свечения составила 2 у контрольного животного, 8 у первого и 4 у второго опытных животных. Во втором опыте по данным ПЦР было выявлено, что количество копий мРНК, кодируемой TGM1, на 1 мкг общей РНК составило около 1013, 107 и 105 у первого, второго и третьего животного соответственно.

Заключение: Результаты по двум опытам показывают, что вирус был успешно доставлен в клетки опытных животных, шел процесс синтеза мРНК гена TGM1 и синтез белка, кодируемого этим геном. Кроме того, второй опыт показал, что наблюдается снижение экспрессии трансгена со временем.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. ПРОЕКТ № FZSM-2023-0011.

ВЛИЯНИЕ АМИНОЭТИЛ ДИФЕНИЛ-2 БОРАТА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ МЫШЕЙ

Т. А. Попёнова, А. В. Чулков, А. Д. Игошкина, Н. В. Микина, М. В. Дубинин

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
tanyaropenova184@mail.ru

Аминоэтил дифенил-2 борат (АФБ) является одним из наиболее изученных борсодержащих соединений, способных регулировать активность различных ионных каналов, в первую очередь кальциевых, с этой целью он и был введен в экспериментальную биологию и медицину в 1997 г. В настоящей работе нами изучено влияние этого агента на функционирование кальциевых каналов, а также комплексов дыхательной цепи митохондрий скелетных мышц мышей линии C57BL/10. Установлено, что АФБ способен дозозависимо подавлять как поглощение ионов кальция митохондриями через кальциевый унипортер, так и выход иона через натрий-кальциевый обменник (NCLX). Используя молекулярный докинг нами показано, что это может быть обусловлено способностью АФБ связываться с внутренней областью трансмембранного домена субъединицы MCU унипортера, а также с Ca^{2+} и Na^{+} -проводящими сайтами NCLX. Установлено, что АФБ способен ингибировать дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий и снижать мембранный потенциал органелл. Показано, что такое действие АФБ обусловлено ингибированием комплексов I и III дыхательной цепи митохондрий. Действительно, нами выяснено, что АФБ проявляет сродство к тем же сайтам комплекса I и комплекса III, что и их природные лиганды дециллубихинон и убихинон-2, но значительно уступает по аффинности их специфическим ингибиторам – ротенону и антимицину А. В докладе обсуждаются механизмы действия АФБ на митохондриальные мишени.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (№23-75-10006).

АНАЛИЗ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ И МЕХАНИЗМА РАСПРОСТРАНЕНИЯ СИГНАЛОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ЛОКАЛЬНЫМ КОМБИНИРОВАННЫМ СТИМУЛОМ У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

А. Ю. Попова, Ю. А. Золин, Е. М. Сухова, В. С. Сухов, Л. М. Юдина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

SilverKumih@mail.ru

При воздействии стрессоров у растений генерируются распространяющиеся сигналы, в том числе электрические, которые влияют на физиологические параметры всего растения. Такие стрессоры могут быть как повреждающего, так и неповреждающего характера. Поскольку для открытого грунта менее характерны повреждающие воздействия и условия длительного покоя, для исследования нами была выбрана комбинация неповреждающих воздействий: свет и умеренный нагрев. Целью нашей работы стал анализ физиологических ответов пшеницы, индуцированных локальным стимулом и механизма распространения сигналов, вызванных таким воздействием.

В качестве объекта использовали растения пшеницы, выращенные на почвенном субстрате при 24°C и 16и часовом световом дне в лабораторных условиях, а также условиях открытого грунта, но с исключением неконтролируемого полива. Для контрольных растений полив осуществлялся 3 раза в неделю, засуху индуцировали путем прекращения полива. Для генерации дистанционных сигналов производилось локальное воздействие комбинацией света и нагрева на лист. Для проверки гидравлической гипотезы распространения электрических сигналов дополнительно проводилось действие на растение повышенным давлением. Электрическую активность регистрировали с помощью $Ag^+/AgCl$ макроэлектродов. Изменение параметров фотосинтеза проводилось с использованием РАМ-флуориметра.

В лабораторных условиях выявлено, что при действии комбинации стрессоров вблизи зоны воздействия генерировались сигналы по типу деполяризации, на отдалении сменяющиеся гиперполяризацией. Почвенная засуха приводила к подавлению таких сигналов. Комбинированное воздействие вызывало снижение квантового выхода фотосистемы II, и повышение нефотохимического тушения флуоресценции. У растений, выращенных в условиях открытого грунта могли возникать сигналы как по типу деполяризации, так и по типу гиперполяризации. При умеренной засухе деполяризационные сигналы вызывали инактивацию фотосинтетических процессов на больших расстояниях от зоны воздействия. При воздействии повышенным давлением также генерировался сигнал по типу деполяризации вблизи зоны воздействия, переходящий в гиперполяризацию. Ответы параметров фотосинтеза были схожими с ответами, вызванными комбинированным воздействием.

Полученные данные подтверждают возможность генерации электрических сигналов при действии умеренных стрессоров у растений, как в лабораторных условиях, так и в открытом грунте, а также их влияние на фотосинтетические процессы. По-видимому, распространение таких сигналов имеет гидравлическую природу

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-74-10088.

СОПРЯЖЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

А. Н. Поповичева¹, А. К. Мартусевич^{1, 2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1;

alexandra.popovichus@yandex.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Цель: выявить взаимосвязь функциональных свойств клеток крови с про- и антиоксидантной активностью ее компонентов у здоровых людей и страдающих воспалительными заболеваниями кишечника.

Материалы и методы исследования. В работе использовали кровь практически здоровых людей обоих полов следующих возрастных групп: 30 человек – до 7 лет, 66 человек – 7-17 лет, 36 человек – 18-25 лет. У людей с ВЗК (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит) были сформированы аналогичные возрастные группы: 17 человек – до 7 лет, 101 человек – 7-17 лет, 31 человек – 18-25 лет. Изучали: реологические свойства крови, мембранные свойства эритроцитов, показатели тромбоцитарного и плазменного гемостаза, маркеры окислительного метаболизма крови, показатели антиоксидантной системы крови, гематологические показатели крови. Для изучения взаимосвязей между изучаемыми параметрами применяли корреляционный анализ (метод Спирмена).

Результаты. У здоровых людей в возрасте до 7 лет была выявлена единичная прямая корреляционная взаимосвязь – между числом тромбоцитов и уровнем СОЭ ($r = 0,50$). У людей 7-17 лет выявлено 11 корреляций, четыре из которых отражают взаимосвязи показателей реологии крови и ее окислительного метаболизма, а семь – показателей гемостаза и реологии крови с гематологическими параметрами ее анализа. У взрослых людей выявлено 16 корреляций, четыре из которых отражают взаимосвязи показателей реологии крови и ее окислительного метаболизма, три – между показателями гемостаза, семь – показателей гемостаза и реологии крови с гематологическими параметрами ее анализа. Также выявлены две взаимосвязи между гематологическими показателями крови. В отличие от практически здоровых людей, у пациентов с хроническим воспалением в возрасте до 7 лет выявлены пять корреляционных взаимосвязей между реологическими свойствами крови и ее гематологическими параметрами. У пациентов с ВЗК в возрасте 7-17 лет выявлена 41 корреляция, описывающая взаимосвязи различных свойств крови. Четыре из них отражают взаимосвязи показателей реологии крови и ее окислительного метаболизма, пять – показателей гемостаза и окислительного метаболизма крови, еще пять – между показателями гемостаза, четыре – показателей гемостаза с гематологическими свойствами крови, четырнадцать – показателей реологии крови с ее гематологическими показателями, две – окислительного метаболизма крови с гематологическими параметрами ее анализа. Также выявлены семь взаимосвязей между гематологическими характеристиками. У взрослых пациентов одна характеризует взаимосвязь показателей реологии крови и ее окислительного метаболизма, еще одна – показателей гемостаза и окислительного метаболизма крови, семь – показателей гемостаза с гематологическими параметрами анализа крови, тринадцать – характеристик реологии крови с последними, три – окислительного метаболизма крови с ее гематологическими параметрами. Корреляционные взаимосвязи между показателями гемостаза крови отсутствуют. Также отмечена одна корреляция между показателями окислительного метаболизма крови и еще одна – между ее гематологическими параметрами.

Заключение. Процесс роста и развития характеризуется постепенным формированием и усложнением связей между изучаемыми свойствами крови. Это доказывается наличием многочисленных значимых корреляционных взаимосвязей между реологическими, про- и антиоксидантными свойствами крови у практически здоровых людей в возрасте от 7 лет и старше. При хроническом воспалении выявлены корреляции, характеризующие взаимосвязь реологических и гемостазиологических свойств крови с показателями про- и антиоксидантных свойств ее компонентов.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПРОНЕЙРОТРОФИНА BDNF В РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ МОТОРНЫХ СИНАПСАХ

Д. А. Потанова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва,
Ленинские горы, 1;
potapovadiana2001@mail.ru

Наша работа была нацелена на изучение механизмов действия пронеуротрофина BDNF (проBDNF) в новообразованных моторных синапсах мышцы. Этот продукт созревания нейротрофина мозга играет важную роль в процессах конкуренции и элиминации синапсов при регенерации и на ранних этапах онтогенеза, однако механизм его действия в новообразованных синапсах еще не до конца изучен.

Исследования проводили на новообразованных в ходе регенерации нерва моторных синапсах m. EDL мышцы. Регистрировали одноквантовые миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП) при помощи стандартной микроэлектродной методики. Для статистической обработки использовали критерии Стьюдента и Манна-Уитни.

Действие проBDNF в новообразованных моторных синапсах было направлено на снижение частоты МПКП без изменения их амплитуды. Этот эффект был опосредован активацией TgkB рецепторов и, что удивительно, не требовал участия рецепторов p75, что было продемонстрировано при помощи антагонистов этих рецепторов, соответственно, циклотраксина В и LM11A31. Снижение частоты МПКП достигалось путем активации калиевых каналов входящего выпрямления GIRK и последующей локальной гиперполяризации мембраны нервной терминали, так как не проявлялось в присутствии блокатора каналов GIRK тертиапина Q. Открытым вопросом оставался механизм активации этих каналов. Предположили, что наряду с взаимодействием пронеуротрофина с TgkB рецепторами и запуском их сигнальных каскадов необходима коактивация метаботропных рецепторов: пуриновых или мускариновых. При использовании антагониста A1 аденозиновых рецепторов DPCPX наблюдали свойственное пронеуротрофину снижение частоты МПКП. Инкубация нервно-мышечного препарата с MRS2211, конкурентным антагонистом P2Y13 рецепторов, или метоктрамином, антагонистом M2 метаботропных рецепторов ацетилхолина также не предотвратила действие проBDNF. Поэтому окончательное выяснение механизмов влияния проBDNF на частоту спонтанной секреции в функционально незрелых моторных синапсах требует дальнейших исследований.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 22-25-00111.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗРИТЕЛЬНЫХ СТРАТЕГИЙ ПРИ ЧТЕНИИ ТЕКСТА

И. А. Потанова, С. А. Лобов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
irinapotanova02@yandex.ru

С развитием человечества и накоплением знаний, количество информации, сохраненной в текстовом виде, непрерывно растет. Увеличение объема информации порождает потребность в дополнительном времени для её изучения, из-за чего остро встаёт вопрос о повышении эффективности обучения, и в частности, восприятия текста. Поле зрения ограничено, что заставляет человека совершать постоянные движения глаз при осуществлении любых задач, в том числе при чтении. Так формируются основные типы движения глаз: фиксации и саккады. Фиксации – состояние, при котором глаза находятся в относительно неподвижном состоянии, сканируя интересующую область. Саккады – быстрые согласованные скачки обоих глаз от одной точки фиксаций к другой. В зависимости от количественных характеристик этих движений (продолжительность, частота и т.д.), можно выделить разные стратегии чтения. У людей зрительные стратегии формируются подсознательно, в результате увеличения скорости чтения.

Целью работы являлось выявление закономерностей между паттернами движений глаз по тексту во время чтения и эффективностью его восприятия: скоростью чтения и количеством усвоенной информации.

В исследовании принимали участие люди в возрастном диапазоне от 18 до 53 лет, которые никогда не обучались технике скорочтения. Регистрация движений взгляда производилась с помощью стационарного окулографа. Испытуемым предлагалось прочитать отрывок рассказа А. П. Чехова «Крыжовник» и ответить на 10 открытых вопросов разного уровня сложности по содержанию прочитанного текста. Время чтения и количество правильных ответов фиксировалось.

Полученные данные свидетельствуют о том, что скорость чтения линейно зависит от двух факторов – числа фиксаций на строку и времени фиксации. Число фиксаций на строку говорит об объеме воспринимаемого текста на одну фиксацию (чем больше число фиксаций, тем меньше объем воспринимаемой информации). Время фиксации говорит о скорости восприятия минимальной порции информации, приходящейся на одну фиксацию. Важно отметить, что время фиксации и число фиксаций между собой не коррелируют. То есть это абсолютно независимые факторы.

Таким образом, основываясь на полученных результатах можно сделать вывод о том, что в задаче чтения текста мозг может повысить свою эффективность с помощью двух стратегий – увеличить фокус восприятия (переход от локальной к глобальной стратегии) либо повысить скорость восприятия минимальной порции информации.

ВЛИЯНИЕ ГРИБА *OIDIODENDRON MAIUS* G.L. BARRON НА РАСТЕНИЯ *ОХУСОЦКУС МАКРОКАРПУС* (АИТ.) PERS. В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ И ПОЛИВА
Е. С. Приписнова¹, В. С. Михеев¹, Д.В. Каденкова¹, А. А. Сухова¹, И. В. Стручкова^{1, 2}, А. А. Брилкина¹, Е. В. Березина¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
katerine.pripisnova@gmail.com

²ООО «Микофит», 606440, Бор Нижегородской обл., ул. Интернациональная, 56Б

Симбиотические грибы, формирующие с растением микоризные структуры, оказывают влияние на метаболизм растения-хозяина, помогая адаптироваться к различным стрессирующим факторам. Засуха – один из сильнейших стрессирующих факторов; она оказывает комплексное воздействие на морфологические, физиологические и биохимические показатели растений. Например, при засухе уменьшается сырая масса растений, падает интенсивность фотосинтеза. Целью данного исследования было выяснение влияния гриба эрикоидной микоризы *Oidiiodendron maius* G.L. Barron на морфологические и биохимические показатели растений клюквы крупноплодной *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. в условиях засухи и полива.

Объектами исследования являлись растения *O. macrocarpus*, инокулированные (опыт) и не инокулированные (контроль) грибом *O. maius* во время посадки растений в грунт. Растения выращивали в лабораторных условиях в течение 5 мес., после чего часть опытных и часть контрольных растений подвергли засухе при отмене полива в течение 7 и 14 дней. Для растений после 7-дневной засухи полив возобновили. У растений определяли морфометрические показатели, содержание фотосинтетических пигментов и фенольных соединений (фотометрически); микоризацию растений оценивали микроскопически. Влажность грунта определяли гравиметрически.

Приживаемость (через 1 мес. после посадки в грунт) контрольных и опытных растений была одинаковой и составила 100%. Стабильная микоризация опытных растений отмечена через 2 мес. после посадки растений в грунт; в частности, выявлены структуры, характерные для эрикоидной микоризы.

Влажность грунта на протяжении 5 мес. была около 78%. Через 7 дней после отмены полива она снизилась на 15%; через 14 – на 45%.

После 7-дневной отмены полива растения визуально не отличались от растений в условиях полива; выживаемость составила 100%. После 14-дневной засухи выживаемость неинокулированных растений составила 33%, инокулированных – 100%. На 7 день засухи биомасса корней неинокулированных растений снизилась в три раза по сравнению с неинокулированными растениями в условиях полива, в то время как биомасса корней инокулированных растений не изменилась по сравнению с инокулированными растениями в условиях полива. Таким образом, микоризация растений *O. macrocarpus*, подвергнутых засухе, способствовала увеличению выживаемости растений, сохранению биомассы корней, а также сохранению содержания фенольных соединений и фотосинтетических пигментов на уровне контрольных растений в условиях полива.

Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ №22-74-00107.

МАТЕРИАЛЫ К ФАУНЕ ЖУЖЕЛИЦ (*COLEOPTERA: CARABIDAE*) ГОРНЫХ ЛЕСОВ КАВКАЗСКИХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД

З. В. Пятницын

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
zpyatnitsyn@mail.ru

Карабидофауна Центрального Предкавказья изучена неравномерно. В частности, мало данных по жужелицам горных лесов Кавказских Минеральных Вод. Поэтому целью работы был сбор материала по жужелицам данного региона. Исследование проводилось в июле 2023 г. в следующих точках 5 гор: Верблюд, 410 м н.у.м. (далее В); Машук, 890 м н.у.м. (М); Железная, 610 м н.у.м. (Ж); Бештау, 950 м н.у.м. (Б); Развалка, 740 м н.у.м. (Р). Во всех сообществах в древесном ярусе преобладали *Fraxinus* sp. и *Acer platanoides*. Сбор материала осуществлялся ловушками Барбера, которые экспонировались сериями по 20 в течение недели. Применялся также ручной сбор.

За период исследований собрано 1507 экз. жужелиц, относящихся к 10 подсемействам, 20 родам и 39 видам, Nebriinae: *Leistus fulvus* (Ж), *Notiophilus biguttatus* (Ж), *N. germinyi* (Б), *N. palustris* (Б), *N. rufipes* (В, М, Ж, Б, Р); Carabinae: *Carabus exaratus* (В, М, Ж, Б, Р), *C. cumanus* (В, М, Ж, Б, Р), *C. convexus oblongulus* (В, Б, Р), *C. adamsi chiragricus* (М, Ж, Б, Р), *C. caucasicus caucasicus* (М); Trechinae: *Trechus quadristriatus* (В, М), *Asaphidion flavipes* (В, Ж), *Bembidion assimile* (В), *B. glabrum* (В), *B. minimum* (В), *B. properans* (В, Ж, Р), *B. quadrimaculatum* (В), *B. tetraseum* (Ж); Pterostichinae: *Pterostichus niger* (Ж), *P. melanarius* (Ж), *P. fornicatus* (В, М, Ж, Р), *P. diligens* (Р); Platyninae: *Calathus fuscipes* (В, Б), *Laemostenus sericeus* (В, М, Ж, Б, Р), *Agonum lugens* (Р), *Platynus assimilis* (Ж, Р), *Anchomenus dorsalis* (Р); Harpalinae: *Amara montivaga* (В, М, Р), *Harpalus atratus* (В, М, Б, Р), *H. honestus* (Б), *Ophonus azureus* (В), *O. gammeli* (В, Р), *O. sabulicola* (Р), *Cymindis scapularis* (Б), Panagaeinae: *Panagaeus bipustulatus* (В, М, Б); Licininae: *Licinus cassideus* (Р), *L. depressus* (М, Б); Lebiinae: *Syntomus obscuroguttatus* (В); Brachininae: *Brachinus crepitans* (М, Р).

Доминирующим видом является *C. exaratus* (830 экз., или 55,1% от общего объема материала). На В и Б доминантами являются *C. cumanus* и *C. convexus oblongulus* соответственно. Некоторые виды зарегистрированы по одному экземпляру (*N. germinyi*, *B. glabrum*, *B. quadrimaculatum*, *B. tetraseum*, *P. diligens*, *A. dorsalis*, *O. azureus*, *O. sabulicola*, *C. scapularis*, *L. cassideus*, *S. obscuroguttatus*). Впервые для региона указываются *N. germinyi*, *A. montivaga*, *C. scapularis*.

Автор выражает благодарность В.А. Зрянину, И.А. Солодовникову, А.С. Бондаренко и Д.Д. Фоминых за помощь в определении материала и консультации.

ОБРАБОТКА БУФЕРОМ С КИСЛЫМ РН И ДВУХВАЛЕТНЫМ FE СПОСОБСТВУЕТ БОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНОМУ СВЯЗЫВАНИЮ СЫВОРОТОЧНОГО IGA С АПОПТОТИЧЕСКИМИ КЛЕТКАМИ

Е. А. Раззорова, Д. А. Курасова, Е. Н. Горшкова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
elizavetarazzorenova1966@yandex.ru

Запрограммированная клеточная гибель, или апоптоз, играет критическую роль для поддержания физиологического гомеостаза. Неспособность эффективно элиминировать апоптотические клетки может привести к постапоптотическому некрозу и формированию очага воспаления. Природные антитела, обладающие врожденной полиреактивностью, распознают измененные антигены на поверхности апоптотических клеток, что способствует их ускоренному выведению при участии фагоцитов.

Ранее мы демонстрировали проявление полиреактивности сывороточного IgA под действием кислых условий среды, кофакторов и прооксидантных агентов. Предполагая, что полиреактивные антитела должны обладать реактивностью в отношении апоптотических клеток, целью данной работы явилось изучение влияния обработки IgA буферами с pH 2,6 и pH 4,0, геминном, ионами Fe (II) и NaOCl на связывание с апоптотическими клетками.

В ходе работы сывороточный IgA человека (5 мг/мл) (Микроген, Россия) обрабатывали 0,2 М глициновым буфером (pH 2,6 и pH 4,0) или 200 мкМ NaOCl (10 мин, комн. t), геминном в молярном соотношении 1:2 (30 мин, 4°C), 500 мкМ и 10 мМ раствором сульфата железа (1 ч, 4°C). Конечная концентрация IgA составляла 250 мкг/мл. Клеточную культуру НЕК293Т (5x10⁶ кл/мл) обрабатывали трис-глициновым буфером (pH 2,6) на протяжении 30 или 80 минут для индукции апоптоза (или альтернативно инкубировали в PBS (pH 7,4)). Затем клетки выдерживали (30 мин, 37°C) с нативным или модифицированным IgA, после чего инкубировали со вторичными антителами к альфа-цепи IgA (ab97219, Abcam) на протяжении 30 минут (при +4°C). Оценку апоптоза и % IgA-связывающих клеток оценивали с помощью проточной цитофлуориметрии.

Было показано, что ни нативный, ни обработанный IgA не связывается с живыми клетками НЕК293Т (% IgA-связывающих клеток менее 1,4 ± 1,2%). Среди клеток, в которых был индуцирован апоптоз в течение 30 минут (63 ± 5,5% Annexin V+PI+-клеток), среднее значение IgA-связывающих клеток было в 1,7 раза выше в образцах с IgA, модифицированным буфером с pH 2,6, а также с IgA, обработанным 10 мМ Fe (II), по сравнению с нативным IgA (63,4 ± 12,9% и 63,8 ± 10,6%, соответственно, против 36,8 ± 1,9% для нативного IgA).

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что полиреактивный сывороточный IgA проявляет реактивность к апоптотическим клеткам, которая, по-видимому, в зависимости от способа модификации может быть выражена в большей или меньшей степени.

АЛЛЕРГОДИАНОСТИКА СРЕДСТВАМИ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

В. В. Разин

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
razinvyacheslav@yandex.ru

Аллергические заболевания встречаются у более чем 8% людей в мире, при этом данный показатель может достигать 40% по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). При этом частота заболеваемости растет, по прогнозам ВОЗ XXI век станет веком аллергии. Помимо этого, аллергические заболевания встречаются и у животных. Проявления аллергических реакций могут вызывать дискомфорт, осложнения других заболеваний или вовсе летальные исходы.

Предлагается создать сайт, посредством которого будет пополняться база данных об аллергических реакциях, где каждый желающий добровольно сможет предоставлять информацию о различных проявлениях аллергии. Например, выявленные аллергические реакции на экзогенные аллергены (пыльца, пища, пыль, различные материалы и т.д.). Можно использовать готовые открытые базы данных и данные медицинских организаций, которые готовы внести свой вклад в данную работу. После сбора данных предстоит их структуризация и обработка с целью составления набора данных, который в последствии будет обновляться. На данных использовать средства искусственного интеллекта, которые позволят из информации на реакции на конкретные аллергены выявлять эти же реакции на остальные с определенной точностью. Например, можно выявлять аллергию на пыльцу по данным о пищевой аллергии на конкретные продукты питания и наоборот. В качестве инструмента анализа можно использовать глубокое и машинное обучения, которые успешно применяются в диагностике заболеваний сердца по данным электрокардиограммы. Далее после составления программных средств диагностики пользователь сайта сможет получать информацию о диагнозах по предоставленным им данным. По мере роста данных точность прогнозов должна возрастать. На данный момент разработан сайт, позволяющий анонимно собирать данные от пользователей о наличии аллергии на конкретные продукты питания. Также создана программа для использования методов машинного и глубокого обучений для задачи предсказания наличия аллергии классов из открытых наборов данных. В дальнейшем ожидается составление датасета на полученных данных от пользователей и внедрение программы искусственного интеллекта на разработанный сайт.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФОТОПОВРЕЖДЕНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУР И СДВИГОВ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ОПТИМУМОВ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАН И ЦИКЛА КАЛЬВИНА

Д. А. Ратницына, Е. М. Сухова, В. С. Сухов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Dasha-lola1997@mail.ru

Свет является ключевым фактором для протекания фотосинтетических процессов у растений, являясь источником энергии и регуляторным фактором. При этом избыточное освещение может вызывать фотоповреждение, которое, в свою очередь, может быть модифицировано различным соотношением активности световой и темновой стадии фотосинтеза. Ранее мы теоретически показали, что изменения температурного режима могут как стимулировать, так и снижать фотоповреждение; выявленный эффект имеет сложный характер. На основании этого, можно предположить, что сдвиги температурного оптимума активности электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) тилакоидных мембраны и цикла Кальвина могут оказывать сложное влияние на устойчивость фотосинтеза к фотоповреждению; исследованию этого вопроса была посвящена настоящая работа.

Для теоретического анализа была использована ранее разработанная и параметризована модель фотоповреждения фотосинтетических процессов, базирующаяся на модели Farquhar-Von Caemmerer Berry (FvCB). Классическая модель FvCB упрощенно описывает обе стадии фотосинтеза (световые и темновые реакции), а также их взаимосвязь. Разработанная модель, помимо классического блока, включает в себя описание фотоповреждения процессов световой стадии фотосинтеза и влияния температуры на активность ЭТЦ и цикла Кальвина. Ранее модель была параметризована на основании экспериментальных и литературных данных.

В ходе исследования, было проанализировано фотоповреждение фотосинтетических процессов при различных температурах в условиях смещения описанных моделью температурных оптимумов световой стадии и цикла Кальвина. Было показано, что сближение температурных оптимумов активности ЭТЦ и цикла Кальвина, которое достигается либо увеличением оптимума для световой стадии, либо снижением оптимума для темновой стадии фотосинтеза, приводит к качественному изменению формы температурной кривой фотоповреждения, имитированной моделью: величина фотоповреждения уменьшается при увеличении температуры. Наоборот, снижение температурного оптимума активности ЭТЦ или увеличение оптимума активности цикла Кальвина не приводит к качественному изменению температурной зависимости фотоповреждения; однако, фотоповреждение усиливается.

Полученные результаты показывают, что простое возрастание температурного оптимума фотосинтетических процессов (например, температурного оптимума цикла Кальвина), может оказать негативное влияние на устойчивость растений к избыточному свету в условиях повышенных температур, что необходимо учитывать при разработке методов увеличения устойчивости конкретных фотосинтетических процессов растения к неблагоприятным воздействиям избыточного освещения и температуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-14-00127).

ВЛИЯНИЕ БЕНТОНИТСОДЕРЖАЩИХ УДОБРЕНИЙ НА УРОЖАЙНОСТЬ ХЛОПЧАТНИКА

А. Х. Рахмонов, О. В. Мячина, Р. Н. Ким, Л. Э. Мамасалиева, О. С. Нарзуллаев, Б. А. Пулатов, Г. Я. Исаев

Институт общей и неорганической химии АН РУз, 100170, Ташкент, Республика Узбекистан, ул. Мирзо-Улутбека, 77;

Одним из главных средств повышения продуктивности сельскохозяйственных культур, в том числе и хлопчатника, важное место, в условиях орошаемого земледелия занимает применение минеральных удобрений. Второе место после азота в питании растений занимает фосфор. Рост и развитие растений зависит от наличия в почве усвояемых форм фосфора, недостаток фосфора ограничивает рост и урожайность сельскохозяйственных культур, не позволяет получать полную отдачу от других видов удобрений. Одним из основных путей пополнения запасов фосфора в почве является применение фосфорных удобрений. Фосфорные удобрения не только повышают урожай, но и влияют на качество продукции, ускоряют созревание сельхозкультур.

В связи с недостаточностью сырьевой базы для производства удобрений в последние годы резко снижены поставки сельскому хозяйству минеральных удобрений. Сельское хозяйство для получения планируемого урожая недополучает фосфорных удобрений до 70%. В результате чего резко падает плодородие почвы, нарушается баланс питания растений, снижается урожайность сельскохозяйственных культур и его качество.

В настоящее время широко ищутся возможности использования Кызылкумских фосфоритов. Ведутся разработки по созданию новых технологий получения удобрений, проводятся исследования по агрономической эффективности фосфоритов и удобрений, изготовленных из того же сырья, на хлопчатнике в условиях типичных сероземов.

Исследования по изучению агрономической эффективности новых форм удобрений на хлопчатнике в условиях типичных сероземов проведены в условиях полевого и вегетационных опытов. Опыты проведены на базе экспериментальной площадки Института общей и неорганической химии в г. Ташкенте, Узбекистан. Повторность вегетационного и полевого опытов четырехкратная.

Удобрения в опыте внесены в сроки. Исследования проведены с сортом хлопчатника Окдарья-6. Средняя урожайность хлопка-сырца растений данного сорта – 38,1-44,5 ц/га, вегетационный период 117-128 дней.

Растения выращены при 70% влажности от полной капиллярной влагоёмкости. В период вегетации хлопчатника в опыте проведены: фенологические наблюдения за ростом и развитием растений, накопление биомассы хлопчатника, учет урожая хлопка-сырца.

В опыте применялись удобрения: В качестве объектов – регуляторов агроценоза предлагаются азотные и фосфорные удобрения, Испытуемые новые формы модифицированные бентонитом Новбахорского месторождения: бентонит-содержащая аммиачная селитра (БАС), бентонит-содержащий аммофос (БАМ), имеющих состав (таблица 1):

Многочисленными исследованиями установлено, что рост и развитие растений зависит не только от содержания питательных веществ в почве, но и от характера сезонной динамики этих элементов в ней, так как потребность в питательных веществах в различные периоды жизни растений неодинакова.

Установление динамики питательных элементов в типичных сероземах в зависимости от применяемых форм бентонитсодержащих удобрений представляет практический интерес для сельского хозяйства. Полученные результаты исследований позволяют хозяйствам правильно и наиболее эффективно использовать испытуемые удобрения под хлопчатник и культуры хлопкового севооборота.

Рассматривая данные по содержанию питательных элементов в почве, следует отметить, что содержание нитратного азота и обменного калия в почве находится в зависимости от применения различных форм фосфорных удобрений. Следует отметить, что содержание подвижного фосфора в почве, как в пахотном, так и в подпахотных слоях, независимо от применяемых форм фосфорных удобрений выше в сравнении с вариантом, где были внесены лишь азотно-калийные удобрения.

В исследованиях изучали поступление питательных элементов по фазам развития хлопчатника в зависимости от форм фосфорных удобрений. Применение всех изучаемых форм удобрений способствовало лучшему использованию растений азота, фосфора и калия удобрений из почвы.

Результаты фенологических наблюдений показали, что внесение всех форм удобрений положительно сказалось на росте главного стебля и числа настоящих листьев, начиная с раннего возраста и накоплении плодоеlementов. Следует отметить, что существенных различий между формами удобрений не отмечено. Почти такая же закономерность зафиксирована по влиянию изучаемых форм удобрений на образовании числа бутонов, симподиальных ветвей.

В полевых условиях накопление коробочек по вариантам опыта практически было одинаково и колебалось от 7,7 до 8,3 шт. на растение. Наименьший результат получен на контрольном варианте – 7,5 шт./растение.

ВЫЯВЛЕНИЕ АССОЦИАЦИЙ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ENOS (RS1799983), AGT (RS4262), ADRB1 (RS1801253) С ЦИТОКИНОВЫМ ПРОФИЛЕМ ПРИ ОЖИРЕНИИ

Л. О. Рашидова¹, Е. А. Давыдова¹, Д. А. Шитов¹, Н. Г. Подпугина², П. С. Зубеев², Е. П. Абалихина², М. В. Ведунова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
leyla170701@mail.ru

²ГБУЗ НО «Городская больница № 33 Ленинского района г. Нижнего Новгорода», 603076, Нижний Новгород, просп.Ленина, 54

Ожирение – это хроническое метаболическое заболевание, характеризующееся аномальным или чрезмерным отложением жировой ткани и являющееся фактором риска развития кардиологических нарушений. В современном представлении ожирение не является строго метаболическим расстройством, а ассоциировано с развитием вялотекущего хронического воспаления. Целью исследовательской работы был поиск ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов генов eNOS (rs1799983), AGT (rs4262), ADRB1 (rs1801253) с содержанием цитокинов у лиц с ожирением.

Материалом исследования служила цельная периферическая кровь и плазма здоровых добровольцев в возрасте от 24 до 76 лет, а также лиц с ожирением в возрасте от 20 до 70 лет. Определение содержания FLT-3L, И-1а, И-6, И-18, М-CSF, MDC, MIG, MIP-1b, PDGF-AA/BB, зотаксина проводилось методом мультиплексного анализа цитокинов плазмы крови с использованием иммуноанализатора с мультиплексированием MAGPIX (Luminex, США) и системы MILLIPLEX Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel 10-plex (Merk, США). Геномную ДНК из клеток цельной крови выделяли с помощью набора реагентов «ДНК-Экстран-1» (Синтол, Россия). Определение полиморфизмов проводилось методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real-time PCR). В ходе работы использовали наборы для определения полиморфизмов Glu298Asp гена eNOS (rs1799983), Thr174Met гена AGT (rs4262), Arg389Gly гена ADRB1 (rs1801253) (Синтол, Россия).

При анализе полиморфизма гена eNOS было выявлено статистически значимое повышение уровня И-1а у лиц с генотипом ТТ относительно лиц с генотипом GT, а также статистически значимое повышение уровней М-CSF и PDGF-AA/BB у лиц с генотипом ТТ относительно лиц с генотипом GG. Следовательно, генотип ТТ гена eNOS ассоциирован с более высокими показателями воспаления, однако распределение генотипов не отличается от распределения в контрольной группе. Статистически значимые различия в уровне цитокинов в зависимости от варианта генов AGT и ADRB1 не были выявлены. Частота встречаемости гетерозиготного варианта СТ гена AGT в группе с ожирением достоверно выше, чем в группе здоровых добровольцев.

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

КОНЦЕНТРАЦИЯ РТУТИ В МЫШЦАХ РЫБ ИЗ ОЗЁР НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ (ПО ДАННЫМ 2023 ГОДА)

А. А. Ревухин^{1,2}, Д. В. Мушаков^{1,2}, Д. И. Постнов¹, В. Т. Комов³, Г. В. Шурганова²

¹Нижегородский филиал ФГБНУ «ВНИРО», 603116, Нижний Новгород, Московское шоссе, 31;

cahek19981110@gmail.com

²ННГУ им. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Борок Ярославской обл., 106

Ртуть и ее соединения токсичны для всех живых организмов, и представляют риск для здоровья населения. Они поступают в организм человека, в основном, с продуктами питания. В первую очередь это рыба, выловленная в водном объекте. В настоящей работе были впервые определены концентрации ртути в мышцах представителей разных видов рыб из озер Нижегородской области. Нижегородская область располагает множеством озер, многие из которых являются популярными местами отдыха, используются для любительского рыболовства и водоснабжения, являясь местами обитания различных видов рыб. Вместе с тем, информация о накоплении ртути в мышечной ткани различных видов рыб Нижегородской области практически отсутствует.

Целью работы являлся анализ накопления и распределения ртути в мышцах рыб из трёх озёр Нижегородской области: оз. Малое Юхро (Борский р-он), оз. Урзино (Бутурлинский р-он) и оз. Родионово (Сосновский р-он). Вылов рыбы осуществлялся стационарными сетями и удочкой в летне-осенний период 2023 г. Отбор и обработку проб проводили общепринятым в практике ихтиологических исследований методиками. Содержание ртути определяли на ртутном анализаторе Lumex RA-915M, оснащённом пиротехнической насадкой, с использованием сертифицированных биологических эталонных материалов DORM-4 и DOLM-5.

Анализ результатов исследований озёр показал, что наибольшее значение содержания ртути зарегистрировано в мышцах рыб из оз. Малое Юхро. У плотвы оно составило 0,101-0,530 мг/кг, у окуня – 0,176-0,501 мг/кг. Менее высокая концентрация содержания ртути зафиксирована у окуня из карстового оз. Родионово (0,110-0,283 мг/кг), являющимся памятником природы регионального значения. Наименьший показатель зарегистрирован в мышцах плотвы из оз. Урзино (старичное озеро р. Пьяна) (0,038-0,138 мг/кг). Результаты определения возраста рыб в лабораторных условиях по чешуе показали, что возраст плотвы в оз. Малое Юхро варьировал от 4 до 7 лет, а в оз. Урзино от 1 до 3 лет. В оз. Малое Юхро возраст окуня варьировал от 2 до 4 лет, а в оз. Родионово от 2 до 4 лет. Выявлена тенденция увеличения концентрации содержания ртути в мышцах рыб с возрастанием их возраста.

Зарегистрированные уровни накопления металла соответствуют или близки к ранее установленным величинам в мышцах рыб из пресноводных водоемов европейской части России. В соответствии с установленными в РФ нормативами, у исследованных в озерах Нижегородской области рыб содержание ртути в целом не превышено. При этом превышение концентрации нормативов ртути наблюдалось в мышцах взрослых особей плотвы из оз. Малое Юхро.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА ПРИ ЧМТ

Л. К. Розина, Е. А. Таранникова, Д. А. Еробкина, А. В. Полозова, А. В. Дерюгина
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ppie.ro@yandex.ru

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) остается одной из ведущих причин смертности и инвалидизации трудоспособной части населения во всем мире. При этом нейропротекция с использованием молекулярного водорода и в сочетании с известными цитопротекторами, такими как цитофлавин, при ЧМТ не исследованы, что связано с недостаточной изученностью механизмов действия молекулярного водорода.

Цель исследования – изучение моновоздействия молекулярного водорода и в сочетании с цитофлавином на функциональные показатели эритроцитов и двигательную активность крыс в посттравматическом периоде ЧМТ.

Закрытую ЧМТ моделировали путем свободного падения груза на теменно-затылочную область мозга крыс. Через 1 час после нанесения травмы, а затем в течение 10 суток ежедневно животных экспериментальных групп ингалировали 2% газо-водородной смесью. Группе животных «цитоплавин+H₂» дополнительно внутрибрюшинно вводили цитофлавин в дозе 0.2 мл/кг в сутки. Контрольным животным ингаляции не подавались. Уровень физиологической нормы определяли по группе интактных животных. В работе исследовали ЭФПЭ, агрегацию эритроцитов, количество ретикулоцитов и двигательную активность крыс на 1, 3, 7 и 14 сутки посттравматического периода ЧМТ.

Анализ показателей красной крови в посттравматический период ЧМТ выявил снижение ЭФПЭ, повышение агрегации эритроцитов и уменьшение числа ретикулоцитов в периферической крови на протяжении всего срока регистрации. При монотерапии молекулярным водородом регистрировали восстановление ЭФПЭ, снижение агрегации эритроцитов к 14 суткам относительно значений контрольной группы животных, что сопровождалось увеличением количества ретикулоцитов. Комбинированная терапия молекулярным водородом и цитофлавином с 3 суток способствовала повышению ЭФПЭ с последующим снижением агрегации эритроцитов к 14 суткам до значений интактной группы. Улучшение показателей красной крови сочеталось с динамикой восстановления двигательной активности крыс с 1 суток посттравматического периода при монотерапии и с 3 суток при комбинированной терапии по сравнению с животными контрольной группы.

Таким образом, ингаляции молекулярным водородом способствовали восстановлению функциональной активности эритроцитов и активации регенерации эритроидного ростка костного мозга в посттравматический период ЧМТ, что, вероятно, приводило к увеличению кислородтранспортной функции крови, уменьшению дефектов моторно-двигательной функций и координации движений в ранние сроки посттравматического периода.

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ В СПЕРМОПЛАЗМЕ И КАЧЕСТВО СПЕРМЫ ЖЕРЕБЦОВ

А. И. Романова, М. М. Апрощенко, А. А. Незаленова

ФГБНУ «ВНИИ коневодства», 391105, Дивово Рязанской обл.;
alinasiniakina@rambler.ru

Целью настоящего исследования стало изучение активности антиоксидантного фермента – глутатионпероксидазы (ГТП) в спермоплазме у жеребцов с высокой и низкой прогрессивной подвижностью (ПП) сперматозоидов. Проведено исследование образцов спермоплазмы и спермы 20 жеребцов чистокровной арабской породы (в возрасте 3 до 19 лет). Прогрессивную подвижность сперматозоидов определяли с помощью компьютерной оценки спермы (Argus CASA, ООО «АргусСофт», Россия). В спермоплазме определили активность фермента ГТП, который катализирует перекись водорода и органические гидропероксиды липидов с использованием глутатиона. Исследование активности ГТП проводили на иммунохимическом анализаторе Tecan Austria Sunrise (Bender Medsystems, Австрия). Для изучения взаимосвязи между активностью ГТП в спермоплазме и качеством спермы жеребцов, всех исследуемых животных разделили на две группы в зависимости от показателя прогрессивной подвижности (ПП) сперматозоидов в нативной сперме. В первую группу включили 9 жеребцов с ПП сперматозоидов в нативной сперме ниже 50%. Во вторую группу включили 11 жеребцов с ПП сперматозоидов в нативной сперме выше 50%. Достоверность различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента. По результатам исследования установили, что у жеребцов 2-ой группы (с высокой ПП сперматозоидов) активность ГТП была выше и достоверно отличалась от 1-ой группы ($p < 0,01$). Основными функциями фермента являются: защита от окислительного стресса белков, липидов, никотинамидных коферментов и антиапоптозный эффект за счет предотвращения выхода цитохрома С (катализатор клеточного дыхания) из клеточных митохондрий. Фермент локализован в митохондриях, а также в небольших количествах в цитолизе клеток. В работе Paras, M. et al. (2019) в спермоплазме жеребцов у арабской породы лошадей отмечена положительная корреляция ГТП с качеством свежего эякулята. Мы предполагаем, что активность глутатионпероксидазы в спермоплазме можно использовать в качестве биохимического маркера при отборе жеребцов с лучшими показателями качества спермы.

Исследования выполнены при поддержке гранта Российского научного фонда № 20-16-00101-П.

ВЛИЯНИЕ СВЕТОВЫХ РЕЖИМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КОНЦЕ ПРОДУКЦИОННОГО ПЕРИОДА, НА УРОЖАЙНОСТЬ, ПИЩЕВУЮ ЦЕННОСТЬ И ЭНЕРГОЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ПОБЕГОВ ГОРОХА В ЗАКРЫТЫХ СИСТЕМАХ

А. А. Рубаева, Е. Г. Шерудило, А. Ф. Титов, Т. Г. Шубаева

¹Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11;
arubaeva@krc.karelia.ru

Выращивание гороха (*Lathyrus oleraceus* Lam.) в закрытых системах в виде готовых к употреблению молодых побегов быстро набирает популярность во всем мире. Этот относительно новый листовой овощ имеет высокую пищевую ценность и пользуется высоким спросом, что делает его идеальной культурой для городских фермеров. В закрытых системах с искусственным освещением (вертикальных фермах) затраты на электроэнергию составляют значительную часть себестоимости продукции. Высокая стоимость энергии является основным фактором, лимитирующим рентабельность производства. Таким образом, инновации в стратегиях освещения являются ключом к снижению затрат на электроэнергию и повышению энергоэффективности производства. Известно, что одной из эффективных стратегий производства для устойчивых к круглосуточному освещению культур может быть непрерывное освещение.

В настоящей работе растения гороха выращивали при температуре 22°C на агровате при поливе питательным раствором. Первые 3 суток семена прорастали в темноте. С 4-х по 11-е сутки растения подвергались трем световым режимам: 1-12 ч фотопериод, 2-12 ч фотопериод в течение 5 суток + непрерывное освещение (24 ч) в течение 3 суток; 3 – непрерывное освещение. Для освещения (400 мкмоль/(м² с)) использовали светодиодные светильники с соотношением (%) красный : зеленый : синий 50 : 21 : 18. Оценивали урожайность (сухой и сухой вес побегов), индекс робастности, содержание хлорофилла, каротиноидов, антоцианов, флавоноидов, пролина, белка, растворимых углеводов и активность антиоксидантных ферментов.

Результаты исследований показали, что побеги гороха устойчивы к круглосуточному освещению на ранних стадиях роста и не имели признаков фотоповреждения листьев. Непрерывное освещение значительно повышало по сравнению с 12 ч фотопериодом урожайность и пищевую ценность побегов гороха за счет увеличения содержания белка, растворимых сахаров и других биологически активных соединений, полезных для здоровья человека.

Использование непрерывного освещения в качестве 3-дневной обработки перед сбором урожая привело к почти такой же урожайности и пищевой ценности побегов гороха, что и выращивание в условиях непрерывного освещения в течение всего продукционного цикла, но потребление энергии на 1 кг побегов гороха при этом снизилось на 54%. Таким образом, предуборочная обработка растений непрерывным освещением для повышения урожайности и их пищевой ценности является более экономически эффективной стратегией производства побегов гороха в закрытых системах, чем использование непрерывного освещения на протяжении всего продукционного периода.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00160).

ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ С КОНТРОЛИРУЕМЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ ДОКСОРУБИЦИНА

В. А. Русакова¹, Ю. А. Тищенко^{1,2}, А. С. Постовалова^{2,3}

¹Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж.И. Алфёрова РАН, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8;
shibzdikmiu@yandex.ru

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

³Университет ИТМО, Санкт-Петербург, просп. Кронверский, 49

В настоящее время разработано большое количество наноструктур для диагностики и терапии злокачественных новообразований. Использование наночастиц улучшает профиль эффективности противоопухолевых препаратов и снижает их токсическое воздействие на здоровые органы, однако для контролируемой доставки следует учитывать ряд факторов, таких как процент инкапсулирования лекарственного препарата, скорость его высвобождения, стабильность наночастиц в средах с различными рН. Наночастицы диоксида кремния (НЧ SiO₂) биосовместимы, имеют высокую термическую, механическую и химическую стабильность. Их пористая структура обеспечивает контролируемое высвобождение терапевтических агентов, что повышает эффективность терапии злокачественных новообразований.

Цель настоящего исследования: исследовать контролируемую загрузку и высвобождение доксорубина (DOX) в НЧ SiO₂ в нормальной и кислой среде, а также проанализировать стабильность наночастиц с данным цитостатиком.

НЧ SiO₂ изготавливались по стандартному методу Штобера. К полученным НЧ SiO₂ добавляли 150 мкл DOX с концентрацией 2 мг/мл, затем перемешивали на ротаторе в течение 30 минут. Взятие супернатантов производилось спустя 1,5, 18, 24, 41, 66 часов для дальнейшего определения процента высвобождения DOX.

Полученные супернатанты были проанализированы на планшетном ридере. Размеры НЧ SiO₂ были определены методом динамического рассеяния света (DLS). По полученным результатам с планшетного ридера и DLS были построены графики зависимости процента высвобождения DOX от времени, а также зафиксированы размеры НЧ SiO₂ в выбранных временных точках. Размер НЧ SiO₂ находился в диапазоне от 85 нм до 200 нм на протяжении 66 ч эксперимента. Полученные данные свидетельствуют о том, что НЧ SiO₂ стабильны. Процент адсорбированного доксорубина составил ~75%. Скорость высвобождения лекарственного средства из НЧ SiO₂ была выше при рН 5,1, чем при рН 7,4. В кислой среде за время эксперимента высвободилось ~25% терапевтического препарата, в нормальной среде – ~12%. Помимо этого, была проведена оценка эффективности клеточного захвата НЧ SiO₂ с DOX на примере В16-F10 линии (меланома кожи) и СТ-26 (колоректальный рак). Согласно данным флуоресцентной микроскопии 90,8% клеток В16-F10 и 95,3% СТ-26 были ассоциированы с НЧ SiO₂, что подтверждает потенциальную эффективность данных носителей для использования в терапии злокачественных новообразований и необходимость детального изучения факторов, влияющих на их контролируемую доставку и высвобождение инкапсулированных веществ.

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда (No 24-25-00210 от 29.12.2023 г.)

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИСТЬЕВ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ СЕРНИСТОГО АНГИДРИДА В АТМОСФЕРЕ

Е. А. Русских, Е. А. Скочилова

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
ruskikh_liza03@mail.ru

Целью данной работы являлось изучение изменения морфологических показателей листьев березы повислой в зависимости от содержания сернистого ангидрида в атмосферном воздухе. Исследования проводили в различных районах г. Йошкар-Олы (Республика Марий Эл): ООПТ лесопарк «Сосновая роща» – контроль, перекресток ул. Комсомольской и ул. Некрасова – район слабого загрязнения, ул. Суворова – район умеренного загрязнения. В атмосферном воздухе сернистый ангидрид определяли с помощью газоанализатора. Объектом исследования являлась береза повислая (*Betula pendula* Roth.). Сбор материала осуществляли с 10 средневозрастных генеративных растений (g2). Площадь листовой пластинки и удельную поверхностную плотность листьев определяли методом высечек.

Наибольшее содержание сернистого ангидрида в атмосферном воздухе обнаружено в районе умеренного загрязнения, что составило $0,09 \text{ мг/м}^3$. В районе слабого загрязнения данный показатель был равен $0,05 \text{ мг/м}^3$. Наименьшее количество сернистого ангидрида выявлено в контроле ($0,03 \text{ мг/м}^3$). Предельно-допустимая концентрация сернистого газа для растений составляет $0,03 \text{ мг/м}^3$. Следовательно, по содержанию сернистого ангидрида обнаружены превышения в 1,7 раза в районе слабого загрязнения и в 3,0 раза в районе умеренного загрязнения, по сравнению с контролем ($P < 0,05$). При увеличении концентрации сернистого ангидрида в атмосфере происходит уменьшение площади листовой пластинки и удельной поверхностной плотности листьев. Наибольшая площадь листовой пластинки у березы повислой обнаружена в контроле и составила $18,5 \text{ см}^2$. Несколько меньше площадь листа у березы повислой ($15,1 \text{ см}^2$) была в районе слабого загрязнения. Наименьшие размеры площади листовой пластинки отмечены у деревьев, произрастающих на ул. Суворова ($12,4 \text{ см}^2$). Аналогично изменялась удельная поверхностная плотность листьев. Максимальное значение удельной поверхностной плотности листьев у березы повислой выявлено в контроле ($0,053 \text{ мг/дм}^2$), а минимальное – у деревьев, произрастающих в районе умеренного загрязнения ($0,024 \text{ мг/дм}^2$). По площади листа и удельной поверхностной плотности листьев между районами обнаружена статистически значимая разница ($P < 0,05$). Таким образом, в районе умеренного и слабого загрязнения г. Йошкар-Олы в атмосферном воздухе обнаружены превышения по сернистому ангидриду. По мере увеличения содержания сернистого ангидрида в атмосфере происходит уменьшение морфологических показателей листьев березы повислой.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ ХОНДРОЦИТАМИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА *IN VITRO*

Е. С. Ручко, П. А. Голубинская, А. С. Пикина, А. В. Еремеев

Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю. М. Лопухина, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а;
Ruchkoevgeny@yandex.ru

Основную массу хряща составляет внеклеточный матрикс (ВКМ), состав и организация которого определяют биомеханические свойства ткани. Суставной хрящ в течение жизни подвергается значительным нагрузкам, что приводит к постепенной потере его функциональности, изменениям состава ВКМ и высокому риску дегенеративных заболеваний. Индуцированные плюрипотентные клетки (ИПСК) являются перспективным источником для получения тканеинженерных препаратов для лечения суставного хряща. Однако к настоящему моменту проведено немного исследований о составе ВКМ, синтезированного хондроцитоподобными производными ИПСК. Данные о составе ВКМ могут быть полезны в создании продуктов на основе хондроцитоподобных производных ИПСК, предназначенных для коррекции дефектов хряща.

Материалы и методы. Хондроциты выделяли из биопсийного материала пациентов с артритами и здоровых доноров по стандартному протоколу с использованием коллагеназы. Дифференцировка ИПСК в хондроцитарном направлении проводилась в среде с добавлением TGF β и BMP2 по ранее отработанному протоколу. Для получения 3D-структур из указанных клеточных линий использовали планшеты AggreWell™800. Оценка содержания ГАГ осуществлялась методом ИФА с применением набора FineTest (кат. № EN4235). Масс-спектрометрия проводилась на жидкостном высокоэффективном хроматографе LC-20 Prominence с масс-спектрометрическим детектором (Shimadzu). В эксперименте было проанализировано 14 клеточных культур, полученных от пациентов и дифференцированных производных ИПСК, в качестве контроля использовалась линия ИПСК. Статистический анализ данных проводился с использованием GraphPad Prism 8.0.1.

Результаты. Согласно результатам ИФА наиболее высокие уровни концентрации ГАГ наблюдались в образцах 3D структур, в частности тех, которые были получены из культур хондроцитов от пациентов. Среди идентифицированных белков были отобраны данные о главных представителях протеогликанов ВКМ хряща: агрекан, декорин, бигликан и хондроитинсульфат-протеогликан 4. По данным протеомного анализа основные отличия можно отметить между группами культур хондроцитов от пациентов и дифференцированных производных ИПСК. При этом повышенную экспрессию всех четырех протеогликанов показали образцы хондросфер, полученные из хондроцитов доноров.

Исследование выполнено в рамках государственного задания №122032300191-2 «Органоид-22».

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МОЛОКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДНЯ ЛАКТАЦИИ

А. А. Савина

Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, 142132, Подольск Московской обл., п. Дубровицы, 60;
KiraBlackFire@mail.ru

Антиоксидантные свойства молока, в частности, показатели суммарной антиоксидантной активности, в отличие от биохимического состава в период самых активных биохимических изменений (первый месяц лактации) достаточно плохо изучены. В результате определения антиоксидантных свойств биологических жидкостей амперометрическим детектированием, мы получаем интегральный показатель СКВА (суммарная концентрация водорастворимых антиоксидантов), который в настоящий момент недостаточно исследован для молока и поэтому не может являться понятным диагностическим показателем состояния животного или качества продукта, важна декомпозиция этого значения.

В этой работе были проанализированы суммарная концентрация водорастворимых антиоксидантов (СКВА) молока, содержание церулоплазмينا (ЦП), каталазы и витамина С в молоке коров двух периодов – до 30-ти дней лактации, исключая молозиво (1 группа) и от 30 до 300-ти дней в декабре и в марте (2 группа). Образцы молока отбирали по результатам контрольной дойки.

Среднее значение СКВА в декабре для молока коров со сроком лактации, не превышающим 30 дней – $17,49 \pm 3,15$, у более долголактующих – $11,9 \pm 2,16$, ЦП в первой группе $0,388 \pm 0,15$, во второй уровень ЦП выше – $0,630 \pm 0,28$, каталазы в первой группе $2,2 \pm 0,76$ и $1,6 \pm 1,06$, аскорбиновой кислоты – $6,93 \pm 1,18$ и $4,76 \pm 0,93$. В молоке коров первой группы СКВА достоверно выше, чем у коров второй на 47,1%. Количество витамина С больше в первой группе на 45,6%, а вот значения церулоплазмينا и каталазы ниже в первой группе на 38,1% и 27% соответственно.

Среднее значение СКВА мартовского молока в первой группе – $10,11 \pm 1,43$ и $8,60 \pm 2,67$ у второй, ЦП в первой группе $0,176 \pm 0,093$, во второй – $0,250 \pm 0,120$, каталазы в первой группе $0,91 \pm 0,43$ и $0,83 \pm 0,37$, аскорбиновая кислота – $5,38 \pm 1,62$ и $4,50 \pm 0,75$. В марте СКВА в первой группе выше чем во второй на 18,6% на фоне небольшого увеличения витамина С (на 19,6%). Так же, в первой группе несколько выше активность каталазы (на 9,6%) по сравнению со второй группой. А вот качество соотношения ЦП – витамин С осталось прежним, при повышенном содержании витамина С и СКВА, активность ЦП снижена по отношению ко второй группе.

В обоих месяцах мы наблюдаем отрицательную корреляцию между СКВА и ферментами (каталазой и ЦП) разной степени силы. Наиболее сильная отрицательная корреляция ($-0,70$) между СКВА и каталазой наблюдается в марте в группе до 30 дней. В этой же группе отрицательные корреляции средней силы между СКВА и церулоплазмином ($-0,53$ в декабре и $-0,46$ в марте). Каталазная активность практически во всех случаях находится в обратной зависимости от количества церулоплазмينا, и всегда обратна концентрации витамина С.

Работа выполнена в рамках государственного задания 124020200032-4 (FGGN-2024-0016).

ЭВОЛЮЦИЯ КОМПОНЕНТОВ РАДИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА У РАСТЕНИЙ

Я. Ю. Савченко

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119991,
Москва, ул. Трубецкая, 8;
yana_savchenko_sych@mail.ru

Белки-транспортёры растительных мембран важны для переноса множества молекул внутрь клетки и к определенным органам. В то время как сама природа транспортных белков хорошо изучена, мы знаем гораздо меньше об их эволюции и экспрессии. В данной работе мы прослеживаем изменения состава компонентов радиального транспорта в процессе эволюции растений и исследуем белки на предмет тканеспецифичности.

Были построены филогенетические деревья белков-транспортёров сульфатов, борной кислоты, нитратов, металлов, аммония и фосфатов. Выделенные клады, которые состоят из последовательностей однодольных злаковых растений, в свою очередь, потом были соотнесены с внешними группами последовательностей водоросли. Неоднородность относительных скоростей накопления замен в серии копий свидетельствует в пользу различного давления стабилизирующего отбора и позволяет выявить более эволюционно консервативные копии, которые, как правило, являются наиболее функционально важными.

Различный уровень экспрессии однородных генов (к примеру, кодирующих транспортёры, переносящие одни и те же вещества) свидетельствует в пользу неодинаковой функциональной нагрузки: чем выше уровень экспрессии, тем потенциально более высокий вклад вносит соответствующая копия. Были выбраны группы ортологов, на основе которых построена тепловая карта и проанализирована экспрессия генов. Выделены кластеры, по которым можно говорить о наличии тканеспецифичной экспрессии.

Уже известны тенденции выполнения разными генами одних и тех же функций. Помимо важной эволюционной функции дублирования всех эволюционных процессов немаловажна и функция параллельности. Функциональное дублирование и параллельность обеспечивают саморегуляцию процессов на всех уровнях живых систем, общий гомеостаз биосферы и сохранение высокого уровня биологического разнообразия, в том числе на генетическом уровне. Для полноценного функционирования организма процессы транспорта должны протекать непрерывно и параллельно, в том числе этим обусловлена тканеспецифичность различных белков-транспортёров. Нами была замечена тканеспецифичность отдельных групп белков-переносчиков. Транспортёры фосфатов экспрессируются исключительно в тканях корня, транспортёры боратов предпочитают в большей степени экспрессироваться в апикальной меристеме. Белки-переносчики сульфатов, аммония и нитратов, напротив, по нашим наблюдениям, не обладают настолько высокой тканеспецифичностью.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КВЧ-ДИАПАЗОНА НА СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА КРОВИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПРИЖИВЛЕНИЯ КОЖНОГО ЛОСКУТА

И. Е. Сазонова¹, Д. Д. Бойцова², А. Г. Соловьева¹, А. В. Суровегина^{1,2}, А. К. Мартусевич^{1,2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

²Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Целью исследования являлась оценка влияния электромагнитного излучения КВЧ-диапазона на интенсивность процессов свободнорадикального окисления и активность антиоксидантных ферментов в крови крыс при моделировании ишемии дорзального кожного лоскута *in vivo*.

В эксперименте использовали 15 белых крыс-самцов линии Wistar. Животных разделили на 3 группы: 1 группа – интактная (здоровые крысы, $n = 5$), 2 группа – оперированные животные без каких-либо воздействий ($n = 5$), 3 группа – оперированные животные с облучением электромагнитным КВЧ-излучением в послеоперационном периоде ($n = 5$).

В интактной группе манипуляции не проводились. У крыс опытной и контрольной групп на участке спины под наркозом (Золетил 60 мг/кг + Ксила 6 мг/кг) выкраивался кожный лоскут 3×10 см на питающей ножке с осевым типом кровообращения. Далее лоскут без натяжения укладывался на место и пришивался узловыми швами. В послеоперационном периоде животные опытной группы получали ежедневное облучение КВЧ 53,57-78,33 ГГц в течение 7 суток в дозе 1,2 мДж. В качестве источника излучения использовался прибор «АМФИТ-0,2/10-01». В плазме и взвеси отмытых в физиологическом растворе (1:4) эритроцитов крыс изучали активность процессов свободнорадикального окисления, уровень малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы и каталазы.

Установлено, что в контрольной группе послеоперационная гипоксия кожного лоскута привела к активации процесса свободнорадикального окисления в эритроцитах, где концентрация МДА выросла на 20% ($p = 0,050$) по сравнению с интактными животными. В эритроцитах контрольных животных по сравнению с интактной группой зарегистрировано компенсаторное увеличение на 17% ($p = 0,02$) удельной активности каталазы. Одновременно отмечалось снижение на 16% ($p = 0,003$) удельной активности супероксиддисмутазы.

В то же время у крыс опытной группы после семидневного курса КВЧ-облучения параллельно с уменьшением площади краевого некроза лоскута в плазме было зарегистрировано достоверное снижение интенсивности перекисного окисления липидов. По данным биофлуоресценции, соответствующий показатель уменьшился на 14% по сравнению с контролем ($p = 0,003$) и на 11% ниже значения этого индекса у здоровых крыс ($p = 0,004$). В эритроцитах отмечалось снижение свободнорадикального окисления по сравнению с контролем и группой интактных животных на 27% и 32% соответственно. Аналогичное падение концентрации МДА в плазме на 34% (по отношению к обеим группам сравнения) под влиянием изучаемого фактора также подтверждает снижение интенсивности свободнорадикальных процессов.

Таким образом, результаты экспериментального исследования показали, что применение электромагнитного излучения ингибирует перекисное окисление липидов в плазме крови за счет активации общей антиоксидантной активности.

ПОДГОТОВКА СПЕРМЫ ЖЕРЕБЦОВ ДЛЯ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ ООЦИТОВ *IN VITRO* В ПРОГРАММАХ ВРТ

В. А. Сакаев, В. В. Калашиников, Л. Ф. Лебедева, Е. В. Солодова
ФГБНУ «ВНИИ коневодства», 391105, Дивово Рязанской обл.;
kotiklusik@mail.ru

Важнейшей стороной процесса оплодотворения ооцитов *in vitro* является качество спермы. В программах ВРТ, в отличие от технологий сохранения и консервации гамет, требуется, наоборот, активация сперматозоидов и отбор наиболее прямолинейно-подвижных из них для успешной капацитации и проникновения в ооцит. С целью подготовки спермы жеребца для проведения искусственного оплодотворения методами ЭКО/ИКСИ было проведено исследование качества спермы, отселекционированной методом всплытия (swim-up) в средах Sp-CZB (приготовлена самостоятельно по прописи S.Damen с использованием импортных реагентов от поставщика ООО «Диаэм», Москва) и GMOPS без BSA (Vitrolife, США). Впервые при проведении этого метода для разбавления спермы после взятия был использован отечественный лактозо-хелато-цитратно-желточный разбавитель (ЛХЦЖ). Свежая сперма путём разбавления в 3-4 раза доводилась до концентрации 50-100 млн/мл. Сперму объёмом 200 мкл помещали под 1 мл той или другой среды на дно пробирок объёмом 5 мл, располагали в штативе под углом 45 градусов и инкубировали в термостате при температуре 38°C. С каждой средой готовили по две пробирки. Через 30 минут отбирали из каждой пробирки 750 мкл верхнего слоя и объединяли в одну пробирку эппендорфа объёмом 1,5 мл. Объединённый супернатант центрифугировали при x300g в течение 3 минут. После удаления надосадочной жидкости полученные гранулы спермы ресуспендировали в 1 мл раствора Sp-CZB, повторно центрифугировали и ресуспендировали в 20 мкл Sp-CZB. Всего исследовано 30 эякулятов спермы от трех жеребцов, по десять образцов от каждого, в двух вариантах разбавления (Sp-CZB и GMOPS). Оценку прогрессивной подвижности сперматозоидов проводили с помощью Argus CASA (ООО «АргусСофт», Россия) и микроскопа Dr.FocalRBM-3 (Германия). При проведении отбора сперматозоидов средний процент общей подвижности в среде Sp-CZB составил $28.8 \pm 6.6\%$, в среде GMOPS – $27,6 \pm 5,1\%$, процент прогрессивной подвижности составил $19.7 \pm 9.2\%$ для Sp-CZB и $18,2 \pm 8,9\%$ для среды GMOPS. Таким образом, исследование показало, что разбавленная ЛХЦЖ-средой сперма может использоваться для проведения метода всплытия, а качество отселекционированной спермы в средах Sp-CZB и GMOPS не имеет существенных различий.

Исследования проводились при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-16-00226).

ЗАМЕЩЕНИЕ НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЖДУ ОБЛАСТЯМИ СА3 И СА1 В СРЕЗАХ ГИППОКАМПА ГРЫЗУНОВ С ПОМОЩЬЮ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

М. И. Самбурова, В. В. Разин, Н. В. Громов, А. В. Бельтюкова, А. Е. Мальков, С. В. Герасимова, Т. А. Леванова, А. В. Лебедева, Л. А. Смирнов

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
samburova.rita@yandex.ru

Нейродегенеративные заболевания являются актуальной проблемой в современном мире. Одним из возможных вариантов её решения являются интерфейсы мозг-компьютер, позволяющие заместить или расширить когнитивные функции с помощью вычислительных систем, имитирующих функции мозга. Решалась задача восстановления нейрональной активности в поврежденных срезах гиппокампа грызунов с помощью нейронной сети LSTM. С помощью двух внеклеточных регистрирующих электродов были записаны локальные полевые потенциалы в областях СА3 и СА1 срезов гиппокампа грызунов при электрической кратковременной стимуляции в зубчатой фасции. Далее полученные сигналы были предобработаны, а именно: очищены от артефактов, отфильтрованы, нормализованы, сведены к нулю и усреднены по амплитудам электрической стимуляции.

На вход сети подавался усреднённый сигнал для некоторой амплитуды стимуляции из СА3 области гиппокампа, на выходе ожидался сигнал из СА1 области. Для определения качества предсказанного сигнала была введена метрика, состоящая из биологически важных параметров ЛПП, таких как угол наклона, время нарастания, время затухания, полуширина ответа. В результате удалось получить нейронную сеть, которая способна восстановить передачу сигнала в гиппокампе и является прототипом системы, которая может быть записана на чип и имплантирована в мозг животного, в результате ожидается замещение функции повреждённого гиппокампа. Полученные результаты будут использоваться для работы с сигналами *in vivo* и дальнейшей доработки чипа.

Сбор и предобработка данных выполнены при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-75-10099), численные результаты (обучение и тестирование модели) – при поддержке Минобрнауки РФ (Контракт FSWR-2021-0013).

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПОВЕРХНОСТИ АЛЛОГЕННОГО МИНЕРАЛЬНО-ОРГАНИЧЕСКОГО КОСТНОГО КОМПОНЕНТА

Ф. О. Самойленко, А. Султанов, Я. Д. Третьяченко, М. А. Баранова, М. Ю. Власов

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева,
443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34;
fedor.samoilenko@icloud.com

На сегодняшний день в области эндопротезирования ведётся поиск новых биоматериалов для замены и восстановления поврежденных костных структур. Это связано с увеличением числа ортопедических и дентальных имплантаций во всём мире, и по данным учёных до 2030 года какого-либо спада не прогнозируется. Поэтому такой биологически активный и биосовместимый материал, как минерально-органический костный компонент (МКК) может найти широкое применение в медицине.

Сорбция проводилась на аллогенном МКК двух видов: из компактного и губчатого костных веществ. Образцы МКК были получены по технологии «Лиопласт®». Адсорбтивом являлись следующие биологически активные соединения (БАС): цефтриаксона натрия трисесквигидрат, тетрациклина гидрохлорид и альбумин бычий сывороточный.

В ходе эксперимента навески МКК заливали растворами БАС и изучали при различных условиях. Концентрацию определяли после центрифугирования спектрофотометрическим методом. Адсорбция БАС на МКК хорошо описывается уравнением Ленгмюра, отсюда следует, что в рассмотренном интервале концентраций образуется монослой макромолекул на поверхности МКК.

Выявлено, что адсорбционный потенциал больше у мкк из губчатой костной ткани. Было установлено, что губчатый МКК отличается по своим сорбционным свойствам от компактного. Это связано с физико-химическими и биологическими свойствами изначальных материалов, используемых в синтезе МКК. Были найдены предельные величины адсорбции БАС из водных растворов на образцах МКК. Данные по кинетике адсорбции альбумина показали, что время достижения стационарного состояния составляет от 4 и до 8 часов для компактного и губчатого МКК соответственно. Дальнейшее увеличение времени экспозиции до двух суток не приводило к существенному изменению равновесной концентрации адсорбируемых веществ.

БРИОФИТЫ КАК НОВАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭВОЛЮЦИИ И РЕГУЛЯТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ БИОЛОГИИ ТЕЛОМЕР РАСТЕНИЙ

А. В. Санникова¹, М. Р. Шарипова¹, Е. В. Шакиров^{1, 2}, Л. Р. Валеева^{1, 2}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; anastasya.sannikova@bk.ru

²Департамент биологических наук Университета Маршала, WV 257555, Хантингтон, США

Теломеры – это специализированные нуклео-протеиновые структуры на концах линейных хромосом эукариот, участвующие в защите геномной ДНК. TRF-белки шелтеринового комплекса играют важнейшую роль в стабилизации структуры теломерного комплекса и длины теломер. В отличие от генома человека, содержащего два гена TRF, у растения *Arabidopsis thaliana* в геноме обнаружено 12 паралогов гена TRF-like (TRFL). Для дальнейшего изучения функций TRFL в биологии теломер растений идеальной моделью является модельный бриофит *M. polymorpha*, поскольку его геном не подвергался множественным дупликациям и избыточен, что позволяет эффективно применять методы обратной генетики.

Целью работы являлось определение длины теломер *M. polymorpha* и других представителей бриофитов как потенциальных модельных объектов для изучения биологии теломер растений и выявление функциональных особенностей паралогов TRFL-белков *M. polymorpha*. В работе были использованы культуры двудомных бриофитов *Ceratodon purpureus* (мужское растение R40 и женское растение GG1) и *M. polymorpha* (Так-1, мужское растение и Так-2, женское растение), природные изоляты мха рода *Sphagnum* и экотипы мха *Physcomitrium patens*. Мутантные растения получали методом редактирования генома CRISPR/Cas9 с применением агробактериальной трансформации. Анализ длины теломер проводили методом TRF (Terminal Restriction Fragment analysis) совместно с Саузерн-блот анализом. Расчет средней длины теломер проводили с помощью программы TeloTool.

Мы показали, что бриофиты обладают относительно короткими теломерами (2500 п.н. в среднем), что может указывать на различия эволюции регуляторных процессов в биологии теломер в растительном царстве. Было показано, что длина теломер бриофитов различается у экологических изолятов одного вида, что указывает на способность мхов адаптироваться к различным условиям среды на молекулярно-генетическом уровне. Обнаружено, что длина теломер значительно различается у мужского и женского растений у двудомных мхов, что может указывать на генетические факторы, связанные с U и V половыми хромосомами растений.

Биоинформатический анализ генома показал наличие 4 паралогов гена TRFL у *M. polymorpha*: MrTRB1, MrTRB3, MrTBP1, MrTRFL6. Были получены растения-одиночные нокауты по генам MrTRFL6 и MrTBP1 и показано уменьшение длины теломер (на 100-400 п.н. ($P \leq 0.05$)) по сравнению с диким типом. Нокаутирование гена MrTRB1 не приводило к изменению длины теломер, однако оказывало влияние на роста ткани таллома. Дальнейшее исследование MrTRFL белков *M. polymorpha* позволят выявить функциональную роль паралогов теломерных белков и углубить понимание эволюции теломерного комплекса растений.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ОТВЕТА КЛЕТОК 3D МОДЕЛИ ГЛИОБЛАСТОМЫ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ «УСИЛЕННЫМИ» НК КЛЕТКАМИ И МОДИФИЦИРОВАННЫМ ОНКОЛИТИЧЕСКИМ ВИРУСОМ НА ОСНОВЕ FLIM-ИМИДЖИНГА

Д. А. Сачкова^{1,2}, Д. В. Южакова¹, Г. М. Юсубалиева³, В. П. Баклаушев³, А. М. Можеров¹, М. В. Ширманова¹

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
sachkova.collins@gmail.com

² ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³ ФНКЦ ФМБА России, 115682, Москва, б-р Ореховый, 28

«Золотой стандарт» лечения пациентов с глиобластомой Grade 4 включает резекцию опухоли с последующей химио- и лучевой терапией, однако выживаемость пациентов остается крайне низкой. В связи с этим, требуется разработка новых подходов к терапии глиобластом, среди которых иммунотерапия и онколитическая виротерапия имеют наибольший потенциал. Перспективным инструментом для оценки ответа опухолевых клеток на лечение может выступать флуоресцентная время-разрешенная микроскопия (FLIM) никотинамидадениндинуклеотид(фосфата) (НАД(Ф)Н), позволяющая проводить метаболический имиджинг в режиме «реального времени».

Целью работы являлось изучение FLIM-параметров флуоресценции НАД(Ф)Н клеток глиобластомы пациентов после иммунотерапии, виротерапии и комбинации подходов.

В качестве объектов исследования выступали сфероиды, созданные из первичных культур глиобластомы Grade 4. Для иммунотерапии использовались новые CAR-NK-клетки с химерным антигенным рецептором YT-CAR-EGFRvIII, для виротерапии – онколитический вирус, модифицированный последовательностью ГМ-КСФ (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор). Визуализацию времени жизни автофлуоресценции НАД(Ф)Н проводили на конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) с FLIM приставкой на основе TCSPC (Becker & Hickl, Германия) (возбуждение 375 нм, прием 435–485 нм).

Была продемонстрирована эффективность новых терапевтических агентов с помощью метода FLIM-имиджинга, а также стандартных методов (оценка морфологии, окраска на живое/мертвое).

В отношении иммунотерапии CAR-EGFRvIII-NK-клетками данные FLIM показали выраженное общее возрастание вклада связанной компоненты $\alpha 2$ НАД(Ф)Н в разных группах через ~5.5 ч после добавления иммунных клеток, что может указывать на возникновение сдвига к окислительному фосфорилированию, быть связано со снижением пролиферативной активности опухолевых клеток и ассоциировано с хорошим ответом на лечение. Стандартными методами показано уменьшение размеров сфероидов после воздействия и повышение фракции мертвых клеток.

При монотерапии вирусом ГМ-КСФ выявлено общее возрастание $\alpha 2$ НАД(Ф)Н для групп с лечением в дозе 2.5 мкл суспензии вируса, при этом наблюдалось нарушение границ сфероида и значительное возрастание фракции мертвых клеток.

Комбинация терапевтических агентов и подобранных режимов позволила наблюдать наиболее выраженный эффект лечения. После добавления 2.5 мкл суспензии вируса ГМ-КСФ и ~5 ч сокультивирования сфероидов с CAR-EGFRvIII-NK наблюдалось возрастание $\alpha 2$ НАД(Ф)Н с 21% до 22,8% ($p = 0.03$), что сопровождалось сильным разрушением сфероидов и преобладанием фракции мертвых клеток по их периферии.

Таким образом, полученные результаты могут служить основой для дальнейших исследований в области разработки комбинированной терапии глиобластомы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-64-00057.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СТЕРИНОВОГО БИОСИНТЕЗА В ЛИШАЙНИКЕ *LOBARIA PULMONARIA* ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ТЕМПЕРАТУР
***М. Свид*^{1, 2}, *И. Ю. Лекси*², *А. О. Онеде*², *Ю. Н. Валитова*², *Ф. В. Минибаева*²**

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *s.moatasem@knc.ru*

²Казанский институт биохимии и биофизики РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31

Проблема стрессовой устойчивости живых организмов является предметом пристального внимания исследователей в течение многих лет. В связи с этим, повышенный интерес исследователей вызывают экстремофилы – организмы, который способны выживать в экстремальных условиях. К таким организмам относятся лишайники, которые представляют собой симбиотические ассоциации между грибами (микобионтами) и водорослями и/или цианобактериями (фотобионтами). Известно, что лишайники обладают достаточно уникальным и разнообразным стеринным составом, отличающимся от такового у грибов и водорослей, что может также определять их высокую стрессовую устойчивость. Несмотря на очевидную важность, биохимические и молекулярные механизмы стрессовой устойчивости лишайников, опосредованные изменениями стеринового профиля, изучены лишь фрагментарно.

Стерины являются важными компонентами клеточных мембран и липидных рафтов, которые играют решающую роль в различных физиологических и биохимических процессах в процессе развития и стрессовой устойчивости живых организмов. Стерины являются продуктами мевалонатного пути биосинтеза, который представляет собой цепь биохимических превращений, ключевыми звеньями которой являются образование мевалоновой кислоты, изопентенилпирофосфата, терпеноидов, в том числе, сквалена. Можно предположить, что изменение температуры окружающей среды может повлиять на синтез стерин в лишайнике *Lobaria pulmonaria* вследствие изменения экспрессии генов, кодирующих ферменты стеринового биосинтеза.

Настоящая работа посвящена изучению активности генов, кодирующих ферменты стеринового биосинтеза, относящихся к семейству ERG. Целью исследования было проанализировать экспрессию генов ERG1, ERG3, HMGred и IDI1 лишайника *L. pulmonaria* при действии пониженной (+4°C) и повышенной (+30°C) температур.

Было показано, что при действии обеих неблагоприятных температур происходит снижение экспрессии гена ERG3 по сравнению с контролем, в отличие от гена IDI1, который демонстрирует заметное увеличение экспрессии гена в тех же условиях. Экспрессия гена ERG1 заметно снижалась при температуре +4°C и не изменялась при температуре +30°C. У гена HMGred, напротив, при повышении температуры наблюдалось снижение экспрессии, а при охлаждении экспрессия гена оставалась на контрольном уровне.

Таким образом, при изменении температуры наблюдается тенденция к снижению экспрессии генов стеринового биосинтеза лишайника *L. pulmonaria*.

Грант РФФ 22-14-00362.

ПОИСК ПРОТЕОМНЫХ КОРРЕЛЯТОВ АДАПТАЦИИ

С. Ю. Селезов, А. В. Шунаев

ФБУН НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, 117246, Москва, Научный проезд, 18;
s.selezov@sysbiomed.ru

Концепция нормальной физиологии включает в себя изучение функциональных систем организма в контексте поддержания внутренней стабильности, известной как гомеостаз. Гомеостаз – динамическое равновесие всех функций организма, позволяющее ему сохранять постоянство внутренней среды посредством механизмов саморегуляции и адаптации к внешним условиям. Здоровье и жизнеспособность являются результатом эффективной гомеостатической регуляции, нарушения этого процесса могут привести к развитию патологии. Физиологическим свойством биологически здорового организма, поддерживающего гомеостаз, является адаптивность к стрессу посредством мобилизации запасенных ранее ресурсов при изменении факторов среды или возникновении новых.

Одна из известных методик измерения уровня адаптации, разработанная Р.М. Баевским, принимает в качестве интегрального показателя физиологических изменений организма оценку функционального состояния сердечно-сосудистой системы. Данное исследование было посвящено поиску молекулярных коррелятов адаптационных состояний здорового человека. Мы исследовали плазму крови 20 испытуемых с различной степенью напряжения механизмов адаптации с целью выявления биохимических сигнатур подобных состояний.

Высокопроизводительные масс-спектрометры, обладающие значительной разрешающей способностью, позволяют обнаруживать малейшие изменения в физиологических процессах организма на уровне молекулярных взаимодействий. В этом исследовании мы применили стратегию восходящей (Bottom-Up) протеомики, чтобы определить биохимические изменения плазмы крови, детерминирующие адаптационные состояния респондентов. Количественная оценка без меток (LFQ) с использованием масс-спектрометрического анализа позволила снять показания относительной квантификации панели белков. Для построения панели применяли базу данных открытого доступа The Human Protein Atlas, раздел The Blood Proteins. В первую очередь в панель включили 100 белков из диапазона концентраций 500 мкг/мкл – 500 пг/мкл для создания и отработки ВЭЖХ-метода, позднее в эту панель добавили 35 белков более низкой концентрации. Критерием выбора мишеней было описанное свидетельство их потенциала как маркеров воспаления, онкогенеза, реакции на стресс или иного функционального состояния организма.

Статистический анализ, основанный на применении методов машинного обучения позволил выделить белки A1BG, VTDB, APOA2, AMBP, THRB, IGHA1, FETUA, APOC3, IGHG2 как наиболее вероятные сигнатуры адаптационного состояния здоровых испытуемых. Однако, учитывая ограниченный размер выборки, для валидации полученных результатов сформированная панель белков должна быть дополнительно проверена на большем количестве испытуемых.

ГЗ -2023 ЕГСУ НИОКТР 122030900062-5.

МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА
А. А. Семенова¹, А. И. Игошкина¹, Н. В. Микина¹, М. В. Дубинин¹, Р. Г. Савченко², Л. В. Парфенова²

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
sem_al.ru@mail.ru

²Институт нефтехимии и катализа РАН, 450075, Уфа, просп. Октября, 141

20-гидроксиэкдизон (20E) является природным стероидным соединением и гормоном линьки беспозвоночных. Также может встречаться в некоторых видах растений, где, по-видимому, помогает растению защищаться от питающихся им беспозвоночных. Исследования *in vivo* и *in vitro* выявили благотворное влияние 20E на млекопитающих: анаболическое, гипополипидемическое, антидиабетическое, противовоспалительное, гепатопротекторное и др. Сообщалось об увеличении массы тела, органов и мышц, а также синтеза белка при пероральном или внутривнутрибрюшинном введении экдистероидов нескольким видам животных. Недавние исследования показали, что 20E также может обладать противоопухолевой активностью. Ряд исследований свидетельствует о том, что мишенью 20E могут быть митохондрии млекопитающих. Более того, положительные эффекты 20E часто связаны с модуляцией функций митохондрий посредством изменения различных клеточных процессов, однако неясно, являются ли его митохондриальные эффекты прямыми или опосредованы активацией других клеточных процессов.

В работе было исследовано влияние 20-гидроксиэкдизона на функционирование митохондрий скелетных мышц мышей. Показано, что 20E в максимальной концентрации 100 мкМ подавляет дыхание митохондрий, энергизованных глутаматом и малатом (субстраты комплекса I дыхательной цепи) или сукцинатом (субстрат комплекса II дыхательной цепи). Такое действие 20E сопровождается снижением мембранного потенциала органелл и связано с ингибированием активности комплекса III и суммарной активности комплексов I и III дыхательной цепи митохондрий. Также отмечен прооксидантный эффект 20E, который проявляется в увеличении продукции перекиси водорода митохондриями скелетных мышц. Кроме того, 20E снижает способность митохондрий поглощать и аккумулировать ионы кальция в матриксе. Таким образом, результаты исследования демонстрируют, что 20E может напрямую влиять на функциональную активность митохондрий скелетных мышц. В условиях *in vivo* такие эффекты 20E на митохондрии скелетных мышц могут оказывать влияние на способность органелл синтезировать АТФ, необходимый, прежде всего, для сокращения скелетной мускулатуры, а также на кальциевый гомеостаз, играющий важную роль в корректной регуляции циклов сокращения и расслабления мышечных волокон.

Работа поддержана грантом РНФ (проект № 23-75-01061).

СЕМЕЙСТВО *ASTERACEAE* ВО ФЛОРЕ ГОРОДА ПАВЛОВСКА***В. В. Семенова, К. В. Эннс, А. И. Федулина, Я. И. Федорова, О. В. Мадорская***Ленинградский государственный университет имени А.С. Пушкина, 196605, Санкт-Петербург, Пушкин Ленинградской обл., Петербургское шоссе, 10;
lancaster.14@mail.ru

Одним из важнейших аспектов изучения и сохранения биологического разнообразия является исследование урбанофлор. Семейство астровые или сложноцветные (*Asteraceae*, или *Compositae*) – космополитное семейство. Во флоре Ленинградской области оно является одним из крупных семейств, входящим в десятку головного спектра, что характеризует флору как бореальную.

Цель работы – изучение современного видового состава растений и выявление особенностей структуры семейства *Asteraceae* во флоре города Павловска.

Исследовательская работа основана на материалах собственных полевых флористических исследований, проводимых авторами в течении 2022, 2023 гг., а также анализа литературы и гербарных материалов.

Установлено, что во флоре города Павловска насчитывается 60 видов *Asteraceae*, что составляет 32% (от 186 видов) флоры Ленинградской области по данным «Определителя...» (2006). Отмеченные виды относятся к 37 родам, большая часть которых являются одновидовыми (24 рода), что составляет 65% от всего числа видов анализируемой флоры, среди которых *Petasites hybridus* L., *Tussilago farfara* L., *Taraxacum officinale* L. и другие. Остальные роды образуют естественный нисходящий ряд: *Cirsium* – 5 видов, *Artemisia* и *Pilosella* – по 4 вида, *Sonchus*, *Centaurea* и *Hieracium* – по 3 вида, *Senecio*, *Lactuca*, *Leucanthemum*, *Anthemis*, *Crepis*, *Achillea* и *Bidens* – по 2 вида. Анализ биоморфологической структуры *Asteraceae* (классификация И.Г. Серебрякова), показал, что в исследуемой флоре доминировали многолетние травянистые растения – 42 вида, или 70%, однолетники насчитывали 18 видов, или 30%.

Анализ экологической структуры флоры *Asteraceae* показал, что по отношению к влажности почвы наблюдалось явное преобладание мезофитов, на которые приходилось 35 видов, или 58%, ксерофиты насчитывали 17 видов или 28%, менее всего было гигрофитов – 8 видов, или 14%. По отношению к трофности почвы явное преимущество было у мезотрофов – 43 вида, или 72%, в то время как эвтрофов (11 видов, или 18%), нитрофилов и олиготрофов (по 3 вида, или 5%) было незначительное количество. По отношению к свету выделено 2 группы растений: гелиофиты и сциофиты. Преобладали гелиофиты – 52 вида, или 87%, сциофиты, занимали подчиненное положение и насчитывали 8 видов, что составляло 13%. Хозяйственная значимость растений связана исключительно со специфическими веществами, которые содержатся в них, и массой органического вещества всего растения или отдельных её частей. В связи с этим, выделены следующие группы растений: медоносные, лекарственные, сорные, аллергенные и кормовые.

ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ CpG-ОСТРОВА ГЕНА CSF1

А. Д. Сергеева, А. Д. Перенков, М. В. Ведунова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alenasergeeva-1997@yandex.ru

Метилирование – это важнейшая модификация ДНК, которая оказывает влияние на реализацию генетической информации. С возрастом наблюдается значительное изменение экспрессии генов. Особенно, это характерно для протоонкогенов, генов-супрессоров опухоли, а также генов, связанных с работой иммунной системы. Ген CSF1 характеризуется изменением уровня экспрессии с возрастом. В связи с этим, целью работы стала оценка уровня метилирования двух регионов, локализующихся в промоторе и в первом интроне гена CSF1.

Материалом работы послужили образцы периферической крови 26 условно здоровых доноров разного возраста (15-83 лет). Выборка была поделена на 3 группы по возрасту: 15-44, 45-59 и 60-85 лет. С использованием технологии EpiTYPER (Agena Bioscience, США) оценивали уровень метилирования двух регионов CpG-острова гена CSF1, располагающихся в промоторе и в первом интроне. Исследуемые фрагменты содержат 29 анализируемых CpG-сайтов. В промоторе локализируются CpG1-CpG21, в интроне находятся CpG22-CpG29.

В результате работы установили, что метилирование региона, локализованного в промоторе, составляет 20% (9%; 42%). Для региона, расположенного в интроне уровень метилирования составляет 18% (8%; 40%). Общий уровень метилирования региона I немного выше, однако, ближе к точке начала транскрипции характерно его снижение. Возможно, это связано с необходимостью посадки транскрипционных факторов. Внутри региона II такой зависимости не наблюдается. Была показана корреляция между уровнем метилирования CpG12 ($r = 0,46$), CpG17 ($r = 0,42$), CpG18 ($r = 0,39$) и CpG29 ($r = -0,65$) с возрастом доноров ($p < 0,05$). В зависимости от возраста доноров метилирование CpG18 ($N = 6,35$), CpG19 ($N = 6,04$) и CpG29 ($N = 12,16$) достоверно отличается.

Метилирование CpG сайтов 18 и 29 коррелирует с возрастом доноров, кроме этого, показано достоверное изменение метилирования данных CpG с возрастом. Причем, для CpG18, локализованного в промоторе, характерно снижение уровня метилирования, тогда как для CpG29, который находится в интроне – повышение. CpG18 входит в состав сайта связывания транскрипционных факторов семейства NF1. CpG29 находится внутри сайта связывания транскрипционного фактора EGR1. Для обоих транскрипционных факторов показано участие в работе гена CSF1. Возможно, изменение метилирования данных сайтов может приводить к сдвигу экспрессии CSF1 с возрастом. В результате работы установили, что существует корреляция между уровнями метилирования некоторых отдельных CpG и возрастом доноров, тогда как взаимосвязи между профилем метилирования этих регионов с возрастом не выявлено. Предположительно, снижение метилирования CpG18 с возрастом может приводить к активации транскрипции исследуемого гена, тогда как повышение метилирования CpG29 ингибирует внутренние сайты начала транскрипции.

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

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ СВОЙСТВ СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ С ПОМОЩЬЮ ТКАНЕВОИНЖЕНЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Т. Сергеева

Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1А;
sergeeva.to@phystech.edu

Особенностью строения сердечной ткани является ярко выраженная структурная и функциональная анизотропия, необходимая для поддержания нормальной работы сердца. Наиболее распространенной моделью исследования возбудимости сердечной ткани является монослой из кардиомиоцитов, помещаемый на тканево-инженерную субстратную подложку, структурированную таким образом, чтобы придать клеточной культуре требуемую архитектуру. В качестве клеточного материала используют клетки, выделяемые из неонатальных сердец крыс или клетки иммортализованной клеточной линии.

В настоящей работе было изучено взаимодействие хозяин-трансплантат при трансплантации кардиомиоцитов на монослой с использованием нановолоконных микроносителей. Были использованы полимерные нановолокна для формирования архитектуры ткани, волны возбуждения регистрировали с помощью установки оптического картирования возбуждения, трехмерные структуры пятна контакта подсаженной сокультуры и монослоя кардиомиоцитов исследованы с помощью конфокальной микроскопии.

Первым и основным компонентом является фрагмент полимерного волокна толщиной приблизительно $0,85 \text{ мкм} \pm 0,18 \text{ мкм}$ ($n = 20$), полученный путем электроформования раствора PLLA. Вторым элементом является белковое покрытие полимерного волокна путем помещения волокон в раствор HFN на 24 часа. Это привело к отложению белка на поверхности волокна, что проявилось в способности кардиомиоцитов прилипать к волокнам заданной толщины.

Убедительным доказательством клеточной адгезии являлось восстановление спонтанной возбудимости клеток, паттерны сигналов спонтанного возбуждения были изучены с помощью анализа снимков конфокальной микроскопии. Средний сигнал (*mean*) был получен на основе 16 следов кальция, полученных из 16 различных клеток (4 разных образца) с частотами спонтанного возбуждения в диапазоне от 0,5 до 1,5 Гц. Важным условием было отсутствие связи между клетками, что было подтверждено псевдо-3D изображением посеянных кардиомиоцитов перед трансплантацией. Изображение для наилучшей визуализации создано с применением средств компьютерного моделирования.

Эксперименты показали, что тканевоинженерные конструкции на основе нановолокон PLLA действуют как каркасы для одиночных кардиомиоцитов во время переноса клеток *in vivo*. Ключевым следствием стало восстановление возбудимости клеток к моменту контакта с тканью-реципиентом в отсутствие полноценного полимерного субстрата.

ПРЕДСКАЗАНИЕ НОВЫХ ПРОНИКАЮЩИХ ПЕПТИДОВ МЕТОДАМИ *IN SILICO*

М. Ю. Серебренникова¹, Д. И. Мальцев^{2, 3, 4}, Э. В. Бочаров², Е. Н. Графская⁵, В. Н. Лазарев^{1, 5}

¹Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1А;
mserebrennikova@list.ru

²Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И.
Пирогова, 117513, Москва, ул. Островитянова, 1

⁴Федеральный центр цереброваскулярной патологии и инсульта, 119049, Москва, просп.
Ленинский, 117

⁵Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.
М. Лопухина, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а

Проникающие пептиды – это уникальные молекулы, способные автономно преодолевать тканевые и клеточные мембраны, не нарушая их целостности, посредством различных энергозависимых или энергонезависимых механизмов. Их потенциал в доставке лекарств, диагностике заболеваний и лечении разнообразных патологий делает их наиболее перспективными кандидатами для разработки новых подходов в различных терапевтических областях. Поиск новых проникающих пептидов традиционно осуществлялся с применением методов медицинской химии, однако благодаря прогрессу науки и технологий, этот процесс стал более эффективным и инновационным, в основном за счет использования методов машинного обучения.

В рамках данного исследования был разработан прогностический алгоритм TripleEP-CPP (Triple Ensemble Prediction of Cell-Penetrating Peptides) на основе ансамблирования оптимизированных моделей k-ближайших соседей, градиентного бустинга и случайного леса. Обучение производилось на двух независимых наборах данных, включающих 1168 проникающих и 1212 непроникающих пептидных последовательностей, извлеченных из базы данных ПП CPPsite2.0 и открытой базы данных Swiss-prot соответственно. Основываясь на результатах анализа молекулярных дескрипторов, рассчитанных для каждой последовательности, было установлено, что 20 численных параметров, включая дескрипторы заряда, объема молекулы, вторичной структуры, поляризации, полярности и индекса нестабильности, оказывают наибольшее влияние на определение различий между двумя классами.

С помощью TripleEP-CPP на независимом тестовом наборе данных, состоящем из некоторых доступных протеомов и пептидомов различных организмов, был осуществлен поиск новых проникающих пептидов. Из общего набора предсказанных потенциально проникающих последовательностей случайным образом были отобраны семь кандидатов с высокими характеристиками. Далее эти кандидаты были химически синтезированы с применением твердофазного метода. По результатам проведения оценки их цитотоксичности можно сделать вывод, что ни один из них не оказывает негативного воздействия на жизнеспособность клеток. Исследование взаимодействия пептидов, конъюгированных с флуоресцентной меткой NBD-F, с клетками методом конфокальной микроскопии продемонстрировало, что один из меченых отобранных пептидов способен транслоцироваться в клетки мышинных фибробластов. Это пептид CpRE12 (SYQWQIFYRSLDGSGAKE) из организма медузы вида *Rhopilema esculentum*. Последующий ЯМР-анализ показал, что N-конец пептида формирует альфа-спираль, а C-конец не имеет упорядоченной структуры.

Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 23-15-00084).

ЭФФЕКТ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ БЕТА-ИЗЛУЧЕНИЯ И ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОДИТАЗИН

И. Р. Сергеев, Н. Ю. Шилягина, С. С. Сороко

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sirnnr@yandex.ru

Радиотерапия (РТ) – метод противоопухолевой терапии, основанный на повреждающем действии ионизирующего излучения (ИИ). Новый этап развития РТ – сочетание с фотодинамической терапией (ФДТ), основанной на взаимодействии света и молекул фотосенсибилизаторов (ФС), приводящее к генерации активных форм кислорода в опухолевых клетках. Комбинация РТ и ФДТ позволяет снизить уровень побочных эффектов и уменьшить дозы излучения в целях повышения общей эффективности терапии.

Целью данной работы является оценка комбинированного действия ИИ и ФС. Эксперименты проводили на клеточной линии эпидермоидной карциномы человека A431. Облучение проводили с помощью закрытых бета-эмиссионных препаратов Sr-Y-90 с мощностью дозы 0,5 и 1,5 Гр/час. Доза облучения составляла 12 Гр. В качестве фотосенсибилизатора использовали клинически одобренный препарат фотодитазин (Ветагранд, Россия).

Было исследовано независимое воздействие ИИ и ФС, а также два варианта комбинированного воздействия ИИ и ФС. В первом случае при комбинированной терапии клетки инкубировали с фотодитазином, после чего облучали светом 20 Дж/см² и спустя 72 часа инкубации проводили облучение ИИ. Во втором случае порядок воздействия был обратным: сначала клетки облучали ИИ, а спустя 72 часа клетки инкубировали с препаратом и подвергали световому облучению.

Комбинированные эффекты терапии оценивали с помощью МТТ-теста. Для оценки эффективности комбинированной терапии проводили расчет коэффициентов, сравнивая результаты комбинированной и монотерапии. Исходя из величины коэффициента, мы оценивали характер комбинированной терапии как синергический, аддитивный или антагонистический.

Нами было показано, что при обоих вариантах комбинированного воздействия наблюдается синергический эффект. При этом в варианте обработки, когда облучение ИИ проводится до фотодинамического воздействия, эффект становится более выраженным.

Таким образом, можно говорить о преимуществах использования комбинации ИИ и ФС в отношении клеток эпидермоидной карциномы человека. Предлагаемый в работе подход позволил зарегистрировать синергические эффекты при использовании более низких концентраций ФС и более низких дозах воздействия.

Исследование поддержано Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-0032).

ВЛИЯНИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА НАКОПЛЕНИЕ БИОМАССЫ И ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КЛЕТОЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ БРУСНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

А. А. Сёмин, Д. А. Рыбин, А. А. Сухова, Е. В. Березина, А. А. Брилкина
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
siom.andrei@yandex.ru

Растительные клетки в условиях *in vitro* способны синтезировать те же метаболиты, что и исходные растения, поэтому они считаются перспективными источниками многих биологически активных веществ. Возможность оптимизировать и стандартизировать условия культивирования клеток позволяет получать эти вещества в промышленных масштабах круглый год. Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) является богатым источником фенольных соединений, которые широко используются в медицине благодаря противовоспалительным и антибактериальным свойствам. Поэтому целью работы являлось определить оптимальную питательную среду и концентрацию фитогормонов для инициации клеточных культур брусники, накопления ими биомассы и фенольных соединений.

Каллусные культуры брусники иницировали из листьев и культивировали на твёрдых питательных средах Андерсона и Woody Plant Medium (WPM) с добавлением ауксина 2,4-Д и цитокинина БАП в концентрации 0.1 мг/л, 0.5 мг/л, 1 мг/л, 1.5 мг/л в отсутствии освещения. Из наиболее рыхлых каллусных культур иницировали суспензионные культуры и культивировали в жидких питательных средах того же состава. По окончании пассажа у всех культур определяли массу и содержание фенольных соединений: растворимых фенольных соединений (РФС), флавоноидов, флаванов и проантоцианидинов по характерным цветным реакциям.

Наибольшая частота каллусообразования (57%) выявлена на питательной среде Андерсона с концентрацией 2,4-Д/БАП 1.5/1.5 мг/л; при снижении концентрации фитогормонов она линейно снижалась. На среде WPM частота каллусообразования была меньше и достигала максимального значения (46%) при концентрации фитогормонов 0.5/0.5 мг/мл.

Максимальное накопление биомассы и фенольных соединений выявлено для каллусных культур на среде WPM с 2,4-Д/БАП 0.5/0.5 мг/л. В целом, на среде WPM каллусы накапливали сырую и сухую массу в 3 раза больше, чем на среде Андерсона, и значительно больше фенольных соединений.

Суспензионные культуры, в сравнении с каллусными, накапливали меньше фенольных соединений; однако максимум их содержания был также зарегистрирован при концентрации 2,4-Д/БАП 0.5/0.5 мг/л.

В результате работы было показано, что для иницирования каллусных культур брусники наиболее подходящей является питательная среда Андерсона с концентрацией 2,4-Д/БАП 1.5/1.5 мг/л. Для наибольшего накопления биомассы и фенольных соединений целесообразным является использование питательной среды WPM с концентрацией 2,4-Д/БАП 0.5/0.5 мг/л.

Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ №23-24-00403.

АНАЛИЗ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ЛОЖЕ ТРУПА В УСЛОВИЯХ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

М. Р. Сизова

Петрозаводский государственный университет, 185910, Петрозаводск Респ. Карелия, просп. Ленина, 33;
marymaris@bk.ru

Было проведено микробиологическое исследование ложа трупа лабораторной мыши. Пробы забирались каждые 3-и сутки на протяжении 18 дней.

Спектрометрическими исследованиями (с помощью технологии MALDI-TOF) на бактериологических посевах были установлены следующие фенотипы.

Всего было идентифицировано 7 фенотипов, среди которых *Klebsiella oxytoca* (8,82%), *Candida guilliermondii* (11,76%), *Lysinibacillus fusiformis* (38,24%), *Acinetobacter calcoaceticus* (5,88%), *Pseudomonas fluorescens* (14,71%), *Delftia acidovorans* (14,71%), *Bacillus licheniformis* (5,88%).

Все представленные микроорганизмы проявляют высокую ферментативную активность. Непосредственно в разложении трупа из них участвуют 5:

1. *Lysinibacillus fusiformis* (катализ портонование различных углеводов и белков, а также производство липазы и протеазы)

2. *Pseudomonas fluorescens* (катализ и портонование, а также гидролазы, катализирующие гидролиз углеводов и белков. Катализирует разложение углеводов, липидов, белков)

3. *Delftia acidovorans* (катализ процесса окисления углеводов, аминокислот и жирных кислот, фосфатазы, липазы и других гидролитических ферментов)

4. *Acinetobacter calcoaceticus* (катализ и портонование различных соединений, а также гидролазы, катализирующие гидролиз и портонование углеводов и белков. Высокая активность ферментов, связанных с ДНК (дезоксирибонуклеазы, лигазы и полимеразы). Может производить различные метаболиты и осуществлять рестрикции на фрагменты ДНК)

5. *Bacillus licheniformis* (наиболее устойчивый к агрессивным условиям микроорганизмов. Имеет амилазы, протеазы, липазы, хитиназы, которые дают ему возможность биокатализировать различные субстраты)

Оставшиеся два (*Klebsiella oxytoca*, *Candida guilliermondii*) представлены патогенным микроорганизмом и микроскопическим грибом (дрожжами), не являются аммонификаторами. *Klebsiella oxytoca* синтезирует различные биологически активные молекулы и обладает разнообразными метаболическими путями. *Candida guilliermondii* имеет фосфатазу, липазу и инвертазу. Катализирует разложение полисахаридов, липидов, белков.

Отличия от теплого климата значительные: в нем преобладают бактерии *Clostridium sp.*, а в случае холодного климата – *Lysinibacillus fusiformis*.

Главным выводом из исследований вариативности фенотипических признаков аммонификаторов является тот факт, что способность к адаптации микроорганизмов в почве связана с различными фенотипическими характеристиками. Более того, эти признаки могут связываться с определенными условиями среды, что позволяет предсказывать изменения, происходящие в почвенной микрофлоре в ответ на изменение окружающей среды.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СИДНОНИМИНОВ НА РАЗВИТИЕ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ *PISUM SATIVUM* L. НА ЗАСУХУ

С. А. Силинская¹, А. А. Маргарит¹, А. А. Орлова¹, А. В. Соболева¹, А. М. Каминская³, Т. Е. Билова^{1,2}, М. А. Черевацкая², А. А. Фролов¹

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Лаборатория аналитической биохимии и биотехнологии, Москва, ул. Ботаническая, 36;
svetlanasilsv@mail.ru

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9

³Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, просп. Ленинский, 33

Улучшение сортов сельскохозяйственных культур для повышения урожайности и качества их продукции является основной задачей современного растениеводства. В этом контексте важно определить эффективные методы предотвращения потерь урожая в районах с неблагоприятным климатом. Одним из них является разработка протекторных агрохимикатов (фитоэффекторов). Они представляют собой природные или синтетические вещества, способные, путем воздействия на молекулярные мишени, предотвращать развитие стресса растений на воздействие неблагоприятных факторов. В качестве перспективных фитоэффекторов рассматриваются сиднонимины. Предполагается, что эти мезоионные гетероциклические соединения, являющиеся донорами NO – важной сигнальной молекулы, способны быстро активировать защитные адаптационные механизмы растений и тем самым способствовать сохранению урожая в условиях засухи. В данной работе был протестирован ряд потенциально протекторных сиднонимин в отношении их способности увеличивать устойчивость растений гороха (*P. sativum* L.) к засухе при предобработке семян перед посевом и обработки листьев на этапе созревания семян.

Засухоустойчивость растений оценивалась по динамике изменений устьичной проводимости и эффективности фотосистемы II. Регистрацию этих параметров выполняли на третьем (от основания растения) листе до и после 14-дневной засухи. Каждое вещество тестировали на четырех растениях, выросших в условиях засухи и четырех контрольных растениях. Эффект индивидуальных сиднонимин на засухоустойчивость растений оценивался по их способности возвращать значения физиологических параметров, обработанных сиднониминами растений в условиях засухи к значениям контрольных организмов

Было показано, что реакция закрытия устьиц наблюдалась у всех растений при приложении условий экспериментальной засухи, как в случае предобработки семян сиднониминами, так и без предобработки. Однако, растения, выросшие при засухе из семян, предобработанных сиднониминами В1-01 и SP-13, проявляли на 50% более низкую устьичную проводимость, по сравнению с растениями, выросшими из необработанных семян. Эффективность фотосистемы II листьев после 14-дневной засухи достоверно не отличалась у растений, выросших из обработанных сиднониминами и необработанных семян.

Полученные данные указывают, что из исследуемых сиднонимин только соединения В1-01 и SP13 способны оказывать потенциальный протекторный эффект на растения гороха, произрастающие в условиях засухи. Потенциально, этот эффект может способствовать сохранению качества семян *P. sativum* L.

Работа выполнена при поддержке НЦМУ «Агротехнологии будущего» договор № 075-15-2022-322 от 22.04.2022 с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ.

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

С. Д. Синюшкина¹, А. Д. Комарова^{1, 2}, И. Н. Дружкова¹, И. Д. Щечкин^{1, 2}, А. М. Можеров¹,
Е. Э. Никонова³, Е. А. Шишин³, В. М. Терехов⁴, М. В. Ширманова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

ss.snowflake@yandex.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

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

⁴ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», 603126, Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1

Метаболическая гетерогенность – фактор, обуславливающий худший прогноз пациента за счет резистентности опухоли к терапевтическим воздействиям. Для оценки переключений между основными путями получения энергии клеткой – гликолизом и аэробным дыханием – может применяться метод флуоресцентного время-разрешенного имиджинга (FLIM) кофактора НАД(Ф)Н.

Целью работы стало исследование клеточной метаболической гетерогенности колоректального рака.

Исследование проводили на клеточной культуре НСТ116, ксенографтах ($n = 3$), привитых мышам линии Nude, и послеоперационных образцах колоректальной аденокарциномы пациентов ($n = 19$). Оценивались параметры затухания флуоресценции НАД(Ф)Н: времена жизни среднее (τ_m), свободной (τ_1) и связанной (τ_2) форм, их относительные вклады (a_1 и a_2). Их регистрацию осуществляли на лазерном сканирующем микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss) с FLIM модулем (Becker&Hickl GmbH), $\lambda_{ex} = 750$ нм, $\lambda_{em} = 450$ -490 нм.

В ходе работы было выявлено, что полученные значения времен жизни кофактора НАД(Ф)Н соответствовали типичным значениям: $\tau_m \sim 1$ нс, $\tau_1 \sim 0.4$ нс, $\tau_2 \sim 2.6$ нс. Значения a_1 в опухолевых клетках НСТ116 составили $\sim 84\%$ *in vitro* и $\sim 80\%$ *in vivo* ($p < 0.001$), то есть в ксенографтах наблюдался сдвиг метаболизма в сторону более оксидативного. Параметр a_1 в образцах опухолей пациентов варьировал в диапазоне ~ 62 -80%. Для количественной характеристики опухолевой гетерогенности использовались дисперсия и индекс бимодальности, рассчитанные для параметра a_1 (D - a_1 и VI - a_1 соответственно) как наиболее чувствительного к метаболическим сдвигам.

Индекс бимодальности – критерий, который проверяет гипотезу о наличии в образце двух метаболически отличных друг от друга субпопуляций клеток. Для 13 пациентов были отмечены высокие значения индекса VI - $a_1 \geq 1$, то есть большинство образцов характеризовалось наличием внутриопухолевой гетерогенности. Для сравнения значения VI - a_1 для клеточной линии НСТ116 были низкими в обоих случаях: 0.22 *in vitro* и 0.55 *in vivo*.

Дисперсия – межквартильный интервал, который характеризует величину разброса значений параметра. При анализе D - a_1 в образцах опухолей пациентов было выявлено значительное варьирование данного показателя между образцами от 2.19% до 11.99%.

Для пациентских образцов была выявлена статистически значимая связь между высокими значениями D - a_1 и низкой дифференцировкой опухолевых клеток ($G3$) ($p = 0.01$), а также тенденция к тому, что при наличии метастазов опухоли характеризовались более высокими значениями VI - a_1 ($p = 0.07$).

Таким образом, была продемонстрирована возможность применения FLIM-микроскопии кофактора НАД(Ф)Н для оценки в пациентских образцах гетерогенности опухолевого метаболизма, которая проявляет себя как неблагоприятный прогностический фактор.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 23-15-00294).

ПРОДУКТИВНОСТЬ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ ШТАММОВ *METARHIZIUM ANISOPLIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А. Д. Скачкова, А. В. Козлов

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
127434, Москва, ул. Тимирязевская, 49;
a.skachkova@list.ru

Целью работы явилась оценка продуктивности и вирулентности в отношении гусениц большой восковой огневки *Galleria mellonella* штаммов *Metarhizium anisopliae*, выделенных из почв Московской области: *M. anisopliae* 2А.2-О (Щелковский район), *M. anisopliae* 3Б-П (Щелковский район), *M. anisopliae* 6-П (Лосино-Петровский городской округ), *M. anisopliae* 14Б.1-М (Подольский городской округ), *M. anisopliae* DB8.1-О (Богородский городской округ). Отбор почвенных проб осуществляли методом конверта по ГОСТу 17.4.4.02-2017. Выделение штаммов проводили методом приманки на насекомых. Просеянную и увлажненную почву помещали в вентилируемые контейнеры (1 л), на поверхность раскладывали гусениц *G. mellonella*, *Manduca sexta* (табачный бражник), личинок мучного хрущака *Tenebrio molitor*, плотно закрывали крышкой и оставляли на сутки при 25°C, затем каждый день контейнеры переворачивали (для наиболее тесного контакта личинок с почвой). Через неделю контейнеры проверяли ежедневно, погибших особей удаляли. Для выделения энтомопатогенных грибов погибших гусениц промывали в 0,1% растворе гипохлорита натрия (2-3 минуты), затем двукратно в стерильной дистиллированной воде, высушивали и раскладывали на картофельно-сахарозный агар с добавлением антибиотика.

Чистую культуру засеивали штрихом на овсяную искусственную питательную среду (ОИПС) и культивировали при 25°C 15 суток. Определение родовой принадлежности изолятов производили с помощью справочников, по морфологии. Видовую принадлежность и подтверждение секвенированием ITS-региона. Продуктивность определяли методом прямого счета конидий, образованных на 15-е сутки роста мицелия штаммов. Для определения вирулентности штаммов был использован контактный экспресс-метод: на поверхность 15-ти суточной культуры раскладывали по 10 личинок *G. mellonella* (по 3 повторности) и оставляли на 5 минут. Контрольную группу раскладывали на поверхность чистого агара. В ходе эксперимента гусениц содержали во влажных камерах при 25°C без кормления. Всего в опыте было использовано по 30 гусениц на вариант.

Результаты анализа показали, что максимальная гибель на 3-и сутки была достигнута в вариантах *M. anisopliae* DB8.1-О и *M. anisopliae* 3Б-П (93,3%), *M. anisopliae* 2А.2-О вызвал гибель 83,3%, *M. anisopliae* 6-П – 66,7%, *M. anisopliae* 14Б.1-М – 50%.

Максимальная продуктивность была отмечена у штамма *M. anisopliae* 3Б-П и составила 97%, минимальная – *M. anisopliae* 6-П и *M. anisopliae* 14Б.1-М (73%).

Полученные результаты позволяют рассматривать штаммы *M. anisopliae* 3Б-П и *M. anisopliae* DB8.1-О в качестве потенциальных штаммов для получения биоинсектицидов.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ПОДВОЕВ НА СИЛУ РОСТА И МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ ЦИТРУСОВЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ПУПОЧНОГО АПЕЛЬСИНА СОРТА ВАШИНГТОН НАВЕЛ (*CITRUS SINENSIS* «WASHINGTON NAVEL»)

В. Е. Скворцов

Липецкий государственный педагогический университет им. Семенова-Тян-Шанского,
398020, Липецк, ул. Ленина, 42;
azbuka2835@gmail.com

Цитrusоводство в мире является важной и весьма рентабельной отраслью сельского хозяйства. В России среди выращиваемых субтропических культур цитрусовые занимают второе место после винограда и чая.

На сегодняшний момент основным методом размножения цитрусовых культур является метод прививки. Как известно большое влияние на культурное растение оказывает подвой. В некоторых случаях подвой может регулировать силу роста, морозоустойчивость, количество зелёной массы растения.

Цитрусовые довольно пластичны в плане совместимости подвоя и привоя. Считается, что в большинстве своем все сеянцы цитрусовых являются универсальными подвоями. Исключение составляют сеянцы кумкватов, мандаринов и танжерин. Помимо стандартных семенных подвоев последние несколько лет широко распространены так называемые клоновые подвои, выращиваемые из апикальной меристемы методом *in vitro*. На данный момент существует порядка 350 разновидностей клоновых гибридных подвоев. Тем не менее, семенные подвои до сих пор остаются актуальными и перспективными для привоя цитрусовых в больших масштабах.

В качестве подвоя цитрусовых чаще используются пять наиболее распространённых форм: макрофилла, трифолиата, цитранж, цитрумело, сеянцы помело. Подвои различаются как по морфологии, так и по силе роста. Чаще других используются цитрумело и сеянцы помело.

Среди популярных подвоев как стандартные семенные сеянцы лимонов, лаймов, апельсинов, грейпфрутов, так и специально выведенные гибридные формы. Например, цитранж С35 и гибрид цитрандарин Х 63 предназначены специально для повышения устойчивости к фитофторозу цитрусовых.

АКУСТИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

К. Е. Скотникова, Г. В. Жаркова, Д. А. Солопина, А. В. Клемина, Т. А. Веселова

*ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sskotnikovaa@yandex.ru*

Изучение реологических параметров клеток крови имеет важное значение для диагностики и мониторинга тяжести течения и наличия различных осложнений гипергликемии. Цель представленной работы – исследование агрегации эритроцитов практически здоровых пациентов, а также пациентов с гипергликемией различной степени тяжести акустическим методом и оценка возможности использования акустической интерферометрии эритроцитов в прогнозе гипергликемии.

Материалами для исследования служили образцы цельной крови практически здоровых доноров (контроль, 40 образцов), а также пациентов с легкой (20 образцов), средней (15 образцов) и тяжелой (40 образцов) степенями тяжести гипергликемии. Тяжесть патологии и наличие осложнений оценивали по содержанию глюкозы и гликированного гемоглобина крови, которые определяли с помощью реагентов «ГЛЮКОЗА ДДС» и «ГЛИКОГЕМОТЕСТ». Акустические исследования агрегации эритроцитов проводили на анализаторе «БИОМ». Для оценки способности эритроцитов к агрегации изучали изменения акустического параметра (АКП) цельной крови в течение 240 секунд.

В образцах крови практически здоровых доноров акустические параметры крови медленно снижались, приближаясь к минимальным значениям к концу измерения (после 200 секунд), что свидетельствовало о низкой скорости агрегации клеток. В крови пациентов с гипергликемией наблюдалась более быстрая агрегация эритроцитов по сравнению с таковой у практически здоровых доноров. При легкой степени тяжести гипергликемии (содержание глюкозы в крови 6,7-8,2 ммоль/л) АКП достигали минимальных значений в течение 60-80 секунд после начала измерения, затем резко повышались, составляя в среднем 29-35 относительных единиц за период измерения. При средней и тяжелой степени тяжести гипергликемии (содержание глюкозы 8,3-16 ммоль/л) акустические параметры достигали минимальных значений до 60 секунд после начала измерения, затем повышались. Однако, средние значения АКП крови при гипергликемии средней степени в процессе измерения изменялись в среднем от 36,5 до 37 относительных единиц, а при тяжелой степени от 38 до 39,5 относительных единиц.

Повышение скорости агрегации эритроцитов при гипергликемии, свидетельствующее о микроциркуляторных осложнениях патологического состояния, может быть обусловлено снижением отрицательного поверхностного заряда клеток вследствие гликирования белков мембран эритроцитов.

Таким образом, полученные результаты показывают возможность использования акустической интерферометрии эритроцитов в комплексной диагностике тяжести гипергликемического синдрома.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОГЛИОМНОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ИММУНОГЕННО ПОГИБШИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Е. Е. Слепцова¹, Т. С. Редькин¹, А. Р. Хузина¹, М. О. Савюк^{1,2}, В. Д. Турубанова¹, Д. В. Крысько^{2,3}

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
e.es222@list.ru

²Лаборатория исследования и терапии гибели клеток Гентского университета, Гент, Бельгия

³Гентский институт исследования рака, Гент, Бельгия

Глиомы являются одними из самых злокачественных новообразований центральной нервной системы. Выживаемость пациентов после постановки диагноза чаще всего не превышает одного года. На сегодняшний день основными методами лечения глиом является хирургическая резекция опухоли и химиотерапия с темозоломидом. Однако данные методы имеют большое количество ограничений и чаще всего приводят ко временному улучшению прогнозу, но не к полному выздоровлению. В этой ситуации иммунотерапия является одним из перспективных подходов в лечении глиом.

В предыдущих работах уже была показана иммуногенность клеточной смерти клеток глиомы GL261 при фотодинамическом воздействии с использованием порфиразинов *in vitro*, а также продемонстрирована эффективность профилактической дендритноклеточной вакцинации на основе ФДТ-убитых клеток.

Целью следующего этапа работы стало проведение терапевтической дендритноклеточной вакцинации на основе клеток глиомы, подвергшихся фотодинамическому воздействию с использованием тетрацианотетра(арил) порфиразинового красителя с 4-(4-фторбензоксифенильной группой на перифирии порфиразинового цикла (pz III).

Для приготовления вакцины использовали дендритные клетки, изолированные из костного мозга большой и малой берцовых костей. Клетки глиомы GL261, подвергшиеся ФДТ-воздействию с использованием pz III, дополнительно лизировали несколькими циклами заморозки-оттаивания и загружали к дендритным клеткам. Мышей линии C57Bl/6J иммунизировали трижды, на 2, 10 и 17 день после инокуляции жизнеспособных клеток глиомы GL261 в головной мозг.

Мыши в группе pz III показали больший процент выживаемости к моменту завершения эксперимента и меньший уровень развития неврологического дефицита, что свидетельствует о меньшем объеме опухоли или ее отсутствии и наличии терапевтического эффекта вакцинации с использованием ДС, загруженных клетками, погибшим иммуногенным путем.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00716, <https://rscf.ru/project/22-25-00716/>.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК И МАТОЧНОГО МОЛОЧКА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА

Е. А. Смирнова, Ю. В. Бобарико, Т. Е. Василенко, Е. В. Крылова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
yuliabobariko@yandex.ru

В последние годы отмечен значительный рост эндокринной патологии, в том числе сахарного диабета 1 типа (СД1). Заболевание представляет собой нарушение усвоения глюкозы и недостаточную секрецию инсулина, в результате чего развивается гипергликемия и инсулинорезистентность.

В работе было исследовано действие дозированных физических нагрузок и маточного молочка на отдельные биохимические показатели и общий анализ крови крыс, имеющих модельный СД1.

СД1 был смоделирован у крыс линии Sprague Dawley. Для этого аллоксан растворенный в 0,5 мл физиологического раствора (NaCl) вводили в дозе 150 мг/кг крысе внутривенно после 12 часового голодания. Далее животные были оставлены на 72 часа со свободным доступом к еде, воде и 5% раствору глюкозы. Затем в течение 16 дней производился тест Порсолта, представляющий собой тренировочный процесс – «принудительное плавание» с аэробной и анаэробной нагрузкой в течение 15 дней. На 16 день – определение физической работоспособности по трехкратному времени «плавание до отказа с грузом». Так же в течение 15 суток проводилась терапия с помощью маточного молочка 100 мг/кг разведенного в 1 мл дистиллированной воды. Общее количество крыс, задействованных в эксперименте – 45.

В каждой из семи обследуемых групп крыс (интактные; контроль 1 СД; контроль 2 ММ; контроль 3 ФН; Опыт 1 СД+ММ; Опыт 2 СД+ФН; Опыт 2 СД+ФН+ММ) изучали уровень глюкозы в крови, показатели липидного обмена (холестерин, ЛПВП, триглицериды) и белкового обмена (общий белок, альбумин, креатинин). Кроме того, измерялись следующие гематологические параметры: общее количество эритроцитов (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT), средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), распределение эритроцитов по величине (RDW).

В результате исследований было установлено, что физические нагрузки благоприятно влияют на течение болезни. Появляется тенденция к улучшению всех показателей. Аналогичная тенденция отмечена и при применении маточного молочка, как отдельного компонента терапии. При воздействии на диабет и физическими нагрузками, и маточным молочком одновременно, обнаружено значимое улучшение каждого показателя почти до нормы. Восстанавливается липидный и белковый обмен, улучшается функция почек.

Установлено, что изменения RBC, HGB, MCV и RDW, указывающие на анемию у крыс с моделированным СД1, поддаются корректировке при применении маточного молочка и дозированных физических нагрузок.

Полученные данные требуют дальнейших исследований по изучению влияния маточного молочка и физических нагрузок на другие биохимические показатели крови, вероятно, могут быть полезны для лечения СД1 или для улучшения состояния организма при болезни.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАПАМИЦИНА НА АКТИВНОСТЬ АУТОФАГИИ В Т-ЛИМФОЦИТАХ ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ

Э. В. Смирнова, А. В. Бурцева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
smirnova290331@mail.ru

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) в настоящее время является наиболее распространенным аутоиммунным заболеванием у человека с встречаемостью 7,5%. Основная терапия АИТ заключается в использовании левотироксина для коррекции гипотиреоза и устранения симптомов, однако не излечивает заболевание. Недавние исследования показали, что аутофагия, основной цитопротективный механизм, может быть тесно связана с патогенезом аутоиммунных заболеваний, включая АИТ. Таким образом, модуляция аутофагического потока может представлять собой новый терапевтический подход к лечению аутоиммунного тиреоидита.

В данной работе исследовалось влияние ингибитора рапамицина на аутофагию в Т-клетках пациентов с АИТ. Изолированные методом иммуномагнитной сепарации CD4+ Т-лимфоциты исследовали на наличие аутофагосом методами трансмиссионной микроскопии, проточной цитометрии, конфокальной микроскопии и аутофагосомных маркеров методом вестерн-блоттинга. Для изучения эффектов рапамицина клетки были разделены на четыре группы: контрольная (без ингибитора), CQ (20 мкМ хлорохина), RAP (200 нМ рапамицина) и CQ+RAP (20 мкМ хлорохина + 200 нМ рапамицина). Клетки культивировали в течение 24 ч в среде RPMI-1640 с добавлением 10% FBS. От всех участников было получено информированное согласие.

В результате нашего исследования было обнаружено, что аутофагосомы встречаются значительно чаще в Т-клетках пациентов с АИТ по сравнению со здоровыми донорами. Кроме того, в Т-клетках больных АИТ были обнаружены гранулы липофусцина и многослойные аутофагосомы. По сравнению с группой здоровых доноров уровень mTOR у больных АИТ достоверно выше. Вестерн-блот анализ показал, что лечение рапамицином снижает уровни белков mTOR, LC3-I, LC3-II в Т-клетках пациентов с АИТ. Кроме того, добавление рапамицина уменьшало размер и количество аутофагосом и увеличивало количество аутолизосом.

Полученные результаты позволяют предположить, что ингибирование передачи сигналов mTOR рапамицином может привести к увеличению активности аутофагии при аутоиммунном тиреоидите. Установление более точных молекулярных механизмов активации аутофагии путем ингибирования белка mTOR рапамицином требует дальнейшего изучения.

Исследование выполнено при поддержке РФФ (№ 23-25-00443).

МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИЕ КАРКАСЫ, ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ МАГНЕТИТОМ: ВЛИЯНИЕ НА БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНУЮ ФЕРМЕНТАТИВНУЮ СИСТЕМУ

Д. В. Смирных¹, Е. С. Сушко², А. Г. Кичеева², Н. С. Кудряшева²

¹Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, просп. Свободный, 79;
den.smirnih@yandex.ru

²Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, ул. Академгородок, 50

Наночастицы на основе железа (например, Fe_3O_4) считаются перспективными при запуске реакций ферроптоза в раковых клетках. Для адресной доставки наночастиц можно использовать металлоорганические соединения (MOF), способные включать в себя достаточное количество наночастиц и быстро высвободить их. Важным является выявление биологической активности таких соединений, как координационные полимеры и их нанокомпозиты с оксидами железа, которые могут принимать участие в гибели раковых клеток, но одновременно могут являться потенциальными токсикантами в организме в процессе их адресной доставки, в том числе могут ингибировать ферментативные реакции.

Цель настоящей работы – выявление биологической активности координационных полимеров с использованием биолюминесцентной ферментативной тестовой системы.

В работе проведено сравнение ингибирующей способности трех металлоорганических соединений – нефункционализованного MOF и двух MOF, функционализованных частицами магнетита с различным порядком введения компонентов: Fe_3O_4 -MOF и MOF- Fe_3O_4 . Для мониторинга ингибирующей способности использован ферментативный люминесцентный биотест НАД(Ф)Н:ФМН-оксидоредуктаза – люцифераза. Для изучения содержания активных форм кислорода (АФК) в водных растворах использовали хемилюминесцентный люминольный метод.

В результате биолюминесцентного тестирования, было выявлено, что все три координационных полимера не подавляли или слабо подавляли интенсивность биолюминесценции ферментативной системы, что служит индикатором их нейтральности в ферментативных системах. Результаты хемилюминесцентного тестирования показали, что содержание АФК для нефункционализованного MOF в ферментативной системе, в целом, остаётся на уровне контроля на всем интервале концентраций MOF. Но в то же время содержание АФК для функционализованных MOF достоверно ниже контрольного показателя при концентрациях выше 10^{-11} мг/л. Это указывает на сдвиг баланса потребления и производства АФК в биолюминесцентной ферментативной системе под действием магнетит-содержащих MOF, вероятно в результате интенсификации редокс-процессов в присутствии Fe^{2+} и Fe^{3+} . Из результатов экспериментов видно, что понижение концентрации АФК не приводит к заметному изменению интенсивности биолюминесцентной реакции в присутствии двух магнетит-содержащих координационных полимеров. Вероятно, такие колебания в содержании АФК не критичны для данного биохимического процесса и находятся в пределах возможности их балансирования.

На основе полученных данных с использованием ферментов, можно выдвинуть предположение о безопасной эксплуатации исследуемых координационных полимеров при локальной доставке лекарств в терапии онкологических заболеваний при запуске реакции ферроптоза. Работа будет продолжена с использованием клеток и органов.

РНФ 22-73-10222.

ДИНАМИКА РОСТА КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛИНИИ MDA-MB-231 В ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ МАТРИКСАХ ОРГАНОВ МЫШИ

А. А. Соколов, А. Д. Поспелов, М. Ю. Карпушин, С. Д. Гефтер, И. В. Балалаева
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sokolov.sokolov3236@mail.ru

Метастазирование является одним из критериев злокачественности опухоли. В процессе миграции и формирования вторичных очагов роста опухолевые клетки непосредственно взаимодействуют с внеклеточным матриксом (ВКМ) внутренних органов. Модели опухолевого роста *in vitro* на основе децеллюляризованного (ДЦЛ) ВКМ позволяют частично воссоздать органоспецифичные условия при росте и прогрессировании опухоли внутри живого организма и дают возможность изучения клеточно-матриксных взаимодействий. Получаемая информация представляет интерес для фундаментального изучения биологии опухолевой клетки, в также имеет большую практическую значимость в связи с возможностью использования опухолевого микроокружения как таргетной мишени противоопухолевой терапии.

Целью исследования является качественная и количественная оценка динамики роста клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MDA-MB-231 в ДЦЛ матриксах ряда мышечных органов.

В ходе нашей работы были получены матриксы органов мыши (легких, печени, селезенки, почек и яичников) химическим методом децеллюляризации на основе детергентов. Матриксы отмывали от детергентов, а затем насыщали питательными компонентами, выдерживая в полной ростовой среде. Полученные матриксы подвергали рецеллюляризации (заселению клетками линии MDA-MB-231) посредством инъекционного введения 3×10^5 клеток в каждый матрикс. Матриксы с клетками культивировали в течение 1-4 недель. Оценку морфологии клеток и степени заселенности матриксов проводили путем стандартного гистоморфологического анализа.

По завершении работы получены ДЦЛ матриксы мышечных органов, впоследствии успешно заселенных клетками исследуемой линии. По результатам гистологического анализа во всех матриксах выявлена мезенхимальная морфология заселенных клеток. Наилучшую пролиферативную активность проявили клетки, заселенные в матриксы легких и яичника. Клетки в этих образцах обнаруживались по всему пространству матрикса. В матриксе селезенки опухолевые клетки были расположены по внутреннему периметру капсулы с единичной локальной миграцией в центральную часть матрикса. В паренхиме матрикса печени заселенные клетки местами образовывали кластерные скопления измененного морфотипа – псевдоэпителиального. В матриксах почки опухолевые клетки были обнаружены под поверхностным слоем капсулы в виде тяжей, уходящих вглубь коркового вещества. В конце третьей недели во всех матриксах наблюдалось разрушение волокон, что связано с активной выработкой металлопротеиназ опухолевыми клетками в процессе его ремоделирования.

В дальнейшем будет продолжено изучение влияния конкретных параметров ВКМ на клетки. Полученные знания о закономерностях и механизмах взаимодействия опухолевых клеток с ВКМ могут дать фундаментальную основу для разработки методов терапии, направленной на микроокружение опухоли.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (проект FSWR2023-0032).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕДЕНИЯ ПОЛЕВОЙ (*APODEMUS AGRARIUS*) И ВОСТОЧНОАЗИАТСКОЙ ЛЕСНОЙ (*APODEMUS PENINSULAE*) МЫШЕЙ В ТЕСТЕ «ПОПАРНОЕ ССАЖИВАНИЕ»

С. С. Соловьева, Н. П. Большакова

Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
sonya.soloveva.01@mail.ru

Для природных сообществ животных характерны постоянные взаимодействия между особями или группами особей, направленные на установление социальных контактов. Социальное поведение обеспечивает коммуникации и обмен информацией. При этом поведенческие особенности являются одним из параметров, обеспечивающих расхождение видов по экологическим нишам при совместном обитании, особенно у близкородственных видов.

Объектами исследования были выбраны полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) и восточноазиатская лесная мышь (*Apodemus peninsulae* Thomas, 1907), обитающие в районе исследований совместно. Материалы собраны в окрестностях г. Томска в 2012, 2015, 2016, 2018, 2021, 2022 года в летний период (июнь, июль). Объем выборки составил 18 особей полевой мыши и 9 особей восточноазиатской мыши. Всего было обработано 62 минуты видео. Проводили ссаживания двух видов мышей между собой, мышей с лесными полевками: рыжая полевка (*Cletrionomys glareolus*), красная полевка (*Cletrionomys rutilus*), красно-серая полевка (*Cletrionomys rufocanus*) и с представителем серых полевок – темной (пашенной) полевкой (*Microtus agrestis*).

Результаты показали, что восточноазиатская мышь вела себя более агрессивно – часто наблюдались драки и преследования партнера. Она всегда отвечала на попытку партнера установить контакт, часто агонистическими реакциями (выпады, драки, преследование). Полевая мышь могла игнорировать партнера и в целом демонстрировала больше нейтральных контактов. Восточноазиатская мышь довольно активно исследовала как свою территорию, так и территорию партнера. Полевая мышь предпочитала больше находиться на своей территории.

Полученные результаты могут быть объяснены с точки зрения экологических особенностей данных видов. Полевая мышь оказывается, в целом, более терпима к контактам с другими видами. Такое поведение позволяет полевой мыши легче встраиваться в сообщества мелких млекопитающих.

Для семеноядных видов характерен большой индивидуальный участок, что определяет большую двигательную и исследовательскую активность особей, а также меньшее перекрытие индивидуальных участков и более агрессивную защиту своей территории от потенциальных конкурентов. Эти особенности в большей степени обуславливают поведение восточноазиатской мыши в ситуации прямого контакта с разными видами мышевидных грызунов.

ИССЛЕДОВАНИЕ СКОРОСТИ РЕПЛИКАТИВНОГО СТАРЕНИЯ *IN VITRO****Е. А. Соснина, В. В. Старостенко, М. В. Ведунова***

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

katasosnina907@gmail.com

Клеточное старение – это процесс, при котором клетки теряют свою способность к нормальной пролиферации и функционированию с течением времени. Оно является результатом накопления различных видов повреждений в клетках. Одним из типов клеточного старения является репликативное старение. Оно характеризуется необратимой остановкой клеточного цикла, вызванной прогрессивным укорочением теломер после определенного числа репликаций.

Целью данной работы явилось изучение показателей старения клеток в процессе репликативного старения на культуре фибробластов, полученных от различных доноров.

В качестве объекта исследования использовались первичные клеточные культуры фибробластов, изолированные из человеческой кожи пяти доноров, которыми явились мужчина и четверо женщин в возрасте 61–66 лет. Культивирование клеток осуществлялось на питательной среде DMEM/F12 (Gibco, США) с добавлением 12% эмбриональной бычьей сыворотки (BioSera, Франция), 1% пенициллина/стрептомицина (ПанЭко, Россия). Жизнеспособность клеток поддерживалась в условиях CO₂-инкубатора Binder C150 (BINDER GmbH, Германия) при температуре 37°C и газовой смеси, содержащей 5% CO₂.

В процессе культивирования, на поздних пассажах, отмечаются морфологические изменения, выражающиеся в нарушении выстраивания в линию и проявления атипизма, касающегося размера и формы.

На каждом этапе был проведен тщательный анализ скорости роста фибробластов человека. Скорость пролиферативной активности культур фибробластов значительно различается, несмотря на одну возрастную категорию доноров. При этом, все культуры имеют схожий паттерн изменения численности клеток, включающий небольшую лаг-фазу, последующий логарифмический прирост и достижение определенного плато.

Для выявления особенностей репликативного старения проводилось цитохимическое окрашивание на определение внутриклеточного содержания SA-β-Gal в фибробластах человека на 1, 3, 5 и 7 пассажах. В ходе последующей статистической обработки данных в приложении GraphPad Prism v.8.4.3 с помощью критерия Манна-Уитни были выявлены достоверные различия в активности SA-β-Gal на разных пассажах. По мере увеличения числа проведенных пассажей в каждой культуре фибробластов происходило увеличение экспрессии SA-β-Gal, и, соответственно, в процесс старения вовлекалось все больше β-галактозидаза-позитивных клеток. Скорость и пролиферативная активность фибробластов, а также скорость морфологических изменений различна у разных доноров и не зависит от возраста и пола.

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

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ПЛОДОВИТОСТЬ ПОЛЕВОК-ЭКОНОМОК И СКОРОСТЬ РОСТА У ИХ ПОТОМКОВ (F1-F3)

Н. Н. Старобор, О. В. Раскоша

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28;
starobor@ib.komisc.ru

В качестве объектов экологического мониторинга на территориях с повышенным радиационным фоном широко используются мелкие грызуны. В настоящее время наибольшую актуальность приобретают исследования, связанные с изучением радиационных последствий как у непосредственно облученных организмов, так и у их потомков. Проведение лабораторных экспериментов на животных, изъятых из природных популяций, позволяют выявить особенности их размножения, а также последствия хронического облучения у их потомков, родившихся и выросших в условиях нормального радиационного фона.

Цель работы. В лабораторных условиях оценить плодовитость у полевок-экономок, отловленных на радиоактивно загрязненном участке и изучить изменение динамики массы тела у их потомков.

Материалы и методы. Полевки-экономки (*Alexandromys oeconomus* Pallas) были отловлены в Ухтинском районе Республики Коми в пик численности на радиоактивно загрязненном (уровень гамма-фона 50-1200 мкР/ч) и на контрольном (10-15 мкР/ч) участках. Животные были привезены в виварий Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (УНУ «Научная коллекция экспериментальных животных»). Для изучения плодовитости было сформировано 11 пар животных (один самец и одна самка) с радиоактивно загрязненного и 8 пар с контрольного участка. Скорость роста у трех поколений потомков определяли по изменению массы тела.

Результаты. Длительность беременности в лабораторных условиях у всех исследуемых самок полевок-экономок составляла 18-22 дня. У полевок с радиоактивно загрязненного участка по сравнению с контрольными животными выявлено повешение плодовитости на 16.1% за счет увеличения количества пометов, состоящих из шести-восьми детенышей (соответственно 20.8% и 5.9%). Ранняя смертность детенышей (F1) в семьях облученных полевок была выше контроля. При дальнейшем размножении животных потери молодняка F2 и F3 составляли 5.9 и 14.9% соответственно. У F1 самцов и самок, родившихся от облученных полевок, в возрасте одного месяца по сравнению с контрольными животными выявлена интенсификация процессов роста. В возрасте трех месяцев более 15.0% самцов и самок F1 постоблученного поколения были крупнее контрольных животных. В отличие от F1 потомки у F2 и F3 поколения постоблученных полевок (самцы и самки) в возрасте от одного до трех месяцев по сравнению с контрольными потомками скорость роста была снижена.

Выводы. Полученные результаты свидетельствует о том, что в условиях вивария у полевок-экономок, отловленных с радиоактивно загрязненного участка установлено повышение плодовитости. У их потомков F1 обнаружена интенсификация процессов роста, тогда как у F2 и F3 полевок, наоборот, скорость роста была снижена.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН № 122040600024-5.

ВЛИЯНИЕ ЖЕСТКОСТИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА ПРОЦЕССЫ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ

В. В. Старостенко, М. В. Ведунова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Valeriyas1999@mail.ru

Клеточное старение представляет собой стабильную остановку клеточного цикла, которая может запускаться в нормальных клетках в ответ на различные стимулы: истощение теломера, оксидативный стресс, активацию онкогена и т.д. Эти типы сигналов вызывают различные типы старения, которые сопровождаются своими специфическими характеристиками.

Жесткость внеклеточного матрикса может являться причиной таких «признаков старения», как эпигенетические изменения, митохондриальная дисфункция и появление характерного секреторного фенотипа, ассоциированного со старением. В связи с этим особое место в современной биологии старения занимает изучение состояния внеклеточного матрикса как индуктора клеточной сенесценции и возможной мишени новых геропротекторных технологий.

Системное понимание процессов старения связано с идентификацией начальных молекулярных изменений, вызванных на клеточном и тканевом уровне. Состав SASP варьируется в зависимости от типа клеток и природы начального стимула.

В связи с этим целью данной работы стало выявление молекулярных механизмов клеточного старения и ключевых факторов, обеспечивающих переход нормальных клеток в SASP-фенотип.

Методы исследования: получение и культивирование первичных культур клеток фибробластов человека, цитохимическое окрашивание внутриклеточной β -галактозидазы, выделение РНК и проведение полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, исследование механических свойств коллагенового матрикса с применением атомно-силовой микроскопии.

Результаты: разработаны и оптимизированы протоколы получения и культивирования первичных культур клеток фибробластов кожи человека, полученных от доноров разных возрастов; разработан и оптимизирован протокол выделения коллагена из хвостов крыс и создания гликированного матрикса. По результатам исследования механических свойств матрикса, негликированный коллагеновый матрикс имеет самое высокое значение модуля Юнга по сравнению с гликированным, что свидетельствует об уменьшении упругих свойств внеклеточного матрикса при воздействии сахаров, и вероятно связано с нарушением структуры волокон при гликировании.

Показано, что при инкубации клеток в условиях гликированного матрикса наблюдается достоверное повышение содержания β -галактозидаза-позитивных клеток относительно контрольной и интактных групп более чем в 2 раза. При культивировании на гликированном матриксе также наблюдается достоверное увеличение экспрессии коннексинов (Gja), увеличение экспрессии фактора некроза опухоли TNF α и снижение CXCL9 и IL-22.

Анализ уровня внутриклеточного содержания β -галактозидазы показал увеличение количества β -галактозидаза-позитивных клеток при культивировании на гликированном матриксе; показаны молекулярные изменения при культивировании фибробластов человека на гликированном матриксе.

Работа выполнена в рамках программы стратегического развития ННГУ им. Н.И.Лобачевского «Приоритет 2030».

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ *TRIFOLIUM PRATENSE* L. И *TRIFOLIUM REPENS* L.

Н. С. Степанов, О. А. Тимофеева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
nik.step97@mail.ru

Воздействуя на растение, внешние условия способствуют активации группы вторичных метаболитов, которые выполняют роль химических посредников между растением и внешней средой. Основное взаимодействие между растением и окружающей средой определяется химическими процессами, которые происходят в результате биосинтеза вторичных метаболитов. Это является ключевой адаптивной реакцией на стрессовые условия. Растения одного и того же вида, произрастающие в различных экологических условиях, имеют заметные различия в интенсивности биосинтеза и накопления вторичных метаболитов, что напрямую сказывается на качестве получаемого растительного лекарственного сырья.

Объектами исследования служили надземные части стержневого травянистого многолетника клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и травянистого многолетника клевера ползучего (*Trifolium repens* L.), собранных в различных популяциях зоны широколиственных лесов, хвойно-широколиственных лесов, южно-таежной и лесостепной зон Республики Татарстан.

Сравнительный анализ экологических факторов показал значимые вариации для параметров почвы, освещенности, температурных условий и антропогенной нагрузки.

Спектрофотометрическим методом определяли общее содержание фенольных соединений. Содержание аскорбиновой кислоты определяли с помощью гексацианоферрата калия. О содержании провитамина А судили по количеству каротиноидов, выделенных из надземной части исследуемых растений.

В результате исследования обнаружено, что содержание исследуемых вторичных метаболитов сильно отличаются в зависимости от места произрастания. Отдельные зоны характеризуются наибольшим содержанием фенольных соединений, другие – витаминов. Наиболее оптимальными для синтеза фенольных соединений в растениях *Trifolium* L. являются зоны широколиственных лесов. Помимо этого, факторами, влияющими на накопление фенольных соединений, являются освещенность и обеспеченность почв азотом. Клевер, произрастающий в хвойно-широколиственной зоне, накапливает высокое количество фенольных соединений. Анализируемые административные районы РТ данной зоны подвержены высокой антропогенной нагрузке.

При этом часто растения клевера из зон, условия которых благоприятны для накопления фенольных соединений и провитамина А, например, зона широколиственных лесов, демонстрируют понижение уровня витамина С, и наоборот, растения из южно-таежной и лесостепной зон, в которых обнаружен низкий уровень фенольных соединений, характеризуются высоким содержанием витамина С. *Trifolium pratense* L. имеет более высокое суммарное содержание фенольных соединений (в 10 раз), витамина С (в 3 раза), по сравнению с *Trifolium repens* L., что свидетельствует как о влиянии условий произрастания, так и о специфике самого растения.

ВЛИЯНИЕ ЗЕЛЕННОГО СВЕТА НА ФОРМИРОВАНИЕ СЕМЯН ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)***Н. В. Степанова¹, А. Е. Смоленская², А. М. Каминская¹, С. С. Медведев³, Г. Н. Смоликова³***

¹ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, Москва, просп. Ленинский, 33;
stepanovanataliia.v@yandex.ru

²Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, 190031, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9

В последнее десятилетие стало активно развиваться направление, связанное с изучением механизмов т. н. нелистового фотосинтеза (non-foliar photosynthesis). К нелистовому типу фотосинтеза относятся также процессы, происходящие в формирующихся семенах растений с зеленым зародышем. Однако до сегодняшнего дня остается нерешенным вопрос о том, как зародыши семян, покрытые тканями перикарпия и кожуры, получают достаточное количество света для обеспечения энергией фотохимических реакций. Нами было показано, что фотохимически активная радиация, проходящая сквозь перикарпий и кожуру и достигающая семядолей на фотохимически активных ранней и средней стадиях созревания семян, характеризовалась высокой долей зеленого и дальнего красного света, при этом синий свет отсутствовал, а количество красного света составляло около 2%. Была выдвинута гипотеза, что зеленый свет может частично компенсировать отсутствие синего света и низкое количество красного света и, тем самым, повышать количество световой энергии, используемой семядолями для фотохимических реакций. Объектом исследования являлись растения гороха сорта Глория, которые выращивали в 2-х модулях, один из которых освещался только синими (400-500 нм) и красными (600-700 нм) светодиодами в соотношении 1:3 (модуль КС), а во второй были добавлены зеленые светодиоды (500-600 нм) (модуль КЗС).

Эффективность фотохимических реакций оценивали методом РАМ-флуориметрии с использованием PAR-FluorPen FP 110 (PSI, Чехия) с использованием ОЛР протокола. Установлено, что, по сравнению с листьями, семядоли обоих вариантов на средней стадии созревания семян характеризуются более высоким показателем ABS/RC, который характеризует размер световых антенн. При этом у семядолей, сформированных в модуле КЗС, этот показатель был ниже, чем в модуле КС. Семядоли, сформированные в присутствии зеленого света, имели более высокие показатели $P_i\text{Abs}$, $\Phi_i\text{Po}$ и $P\text{Hi}_Eo$, которые характеризуют эффективность восстановления пула пластохинонов в ЭТЦ фотосистем II.

Зрелые семена, сформированные в модуле КЗС, в присутствии зеленого света, демонстрировали более высокую скорость прорастания, всхожесть и содержали, в среднем, на 3% белка больше, чем семена, сформированные в модуле КС при освещении только красными и синими светодиодами.

Таким образом, нами показано, что зеленый свет, проникающий сквозь ткани перикарпия и кожуры, влияет на фотохимическую активность зародышей гороха и эффективность накопления запасных питательных веществ.

Работа выполнена при поддержке НЦМУ «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-318 от 20.04.2022) на базе ЭУИК (регистрационный номер УНУ U-73547).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛЮПИНА МНОГОЛИСТНОГО КАК ИНВАЗИВНОГО ВИДА РАСТЕНИЯ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

П. А. Степанова, К. В. Эннс, О. С. Бикташева, Е. Д. Ильючик, П. С. Хлопина

Ленинградский государственный университет имени А.С. Пушкина, 196605, Санкт-Петербург, Пушкин Ленинградской обл., Петербургское шоссе, 10;
polinastep03@mail.ru

В настоящее время важной экологической, а нередко и экономической проблемой становится занос и распространение инвазионных видов растений. В северо-западном регионе России таким видом является люпин многолистный (*Lupinus polyphyllus* Lindl.), многолетнее растение из семейства бобовые (*Fabaceae*), родом из Северной Америки. В России имеет наивысший инвазионный статус – вид трансформер. Целью нашей работы было установить распространение и биологические особенности люпина многолистного (*Lupinus polyphyllus* Lindl.) в условиях Ленинградской области. Исследования люпина многолистного (*Lupinus polyphyllus* Lindl.) в Ленинградской области проводились в течение 2021–2022 гг. Флористические обследования территории выполнялись по общепринятым методикам маршрутными способами с составлением полевых дневников, общих флористических списков выявленных растений и последующей камеральной обработкой материалов. Обследование проводилось в течение вегетационного периода (апрель–октябрь). При изучении видового разнообразия инвазивной флоры использовали классический сравнительный эколого-морфологический метод, основанный на анализе массового гербарного материала, наблюдениях и учётах в природе. Установлено, что *Lupinus polyphyllus* Lindl. на территории Ленинградской области является типичным эргазиофитом и агриофитом. Всего на территории Ленинградской области располагается 471 шт. растений данного вида, преимущественно произрастающих на северо – западе территории. Он натурализовался как в природных, так и антропогенных экосистемах. Повсеместно встречается в парках, на приусадебных участках, цветниках, но все чаще – как одичавшее растение вдоль дорог, на пустырях, залежах и свалках. Его распространение приобретает угрожающие масштабы. На исследуемой территории нами отмечались сплошные заросли *Lupinus polyphyllus* как на необрабатываемых землях, так и в посевах зерновых и кормовых культур, на сенокосах и пастбищах, что в перспективе может нанести ощутимый экономический и социальный вред. Так, в луговых разнотравно-злаковых сообществах с проективным покрытием 54% участие других видов не превышало 2–4%. В местах распространения *Lupinus polyphyllus* Lindl. исчезают не только особи редких видов, но и ценные луговые кормовые и даже некоторые многолетние растения, что приводит к структурно-функциональным изменениям в фитоценозах. В рудеральных и сегетальных экотопах *Lupinus polyphyllus* проходит полный цикл развития и продуцирует огромное количество семян, вследствие чего способен влиять на видовой состав растительных сообществ. Средняя семенная продуктивность одного генеративного побега изменялась от 112 до 238 шт. семян. При созревании плодов они растрескивались и семена рассеивались на расстояние до 2 м, а подхваченные ветром – до 10 м от материнского растения. Созревание семян наблюдалось в августе–сентябре. При прорастании семян осенью, растения цвели в следующем году, а при весенних или летних всходах – лишь на следующий год. Таким образом, эффективный контроль *Lupinus polyphyllus* с учетом его биологических особенностей должен стать составной частью проблемы предотвращения распространения инвазионных видов растений на обрабатываемых и необрабатываемых землях и сохранения биоразнообразия Ленинградской области.

ВОДОРΟΣЛИ, КАК ИНДИКАТОРЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДЫ РЕКИ КОТОРОСЛЬ (ГАВРИЛОВ-ЯМСКИЙ Р-Н, ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

П. А. Сторожева, Л. Ю. Минеева

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;
ptelvani@mail.ru

Водоросли служат достоверными показателями изменений уровня загрязняющих веществ в воде. Благодаря им можно определить наличие в воде вредных элементов, которые существенно влияют на разнообразие водорослей. Анализ альгофлоры р. Которосль, и попытка выявить уровень загрязнения водоема, является важной задачей, поскольку источником водоснабжения городского поселения Гаврилов-Ям является вода р. Которосль.

В ходе исследования были обнаружены различные виды водорослей, интерес вызывают *Synedra ulna* (4), *Gonium pectorale* (6), *Diatoma mesodon* (4), *Meridion circulare* (6), которые являются индикаторами загрязнения водоемов (числа в скобках-частота встречаемости вида в пробе). Был рассчитан индекс сапробности Пантле-Букка (1,51), сапробные значения организмов были взяты из различных источников. Оценка качества воды по сапробным показателям выявила, что зона сапробности бетамезосапробная, III класс чистоты воды – слабо загрязненные воды, в которых преобладают виды, активно вегетирующие при слабой степени органического загрязнения, доминируют бетамезосапробионты.

Также, загрязнение водоема подтверждается проведенным химическим анализом воды, где уровень pH в местах, удаленных от людей, равен 6,8-7,0, а в местах людского пользования 8,1-9,0. Увеличение щелочности на различных участках может свидетельствовать о загрязнении, что в дальнейшем может привести к цветению воды. Уровни общей и временной жесткости варьируют в зависимости от места взятия пробы (4-8 мг-экв/л и от 3-8 мг-экв/л). Аналогично в некоторых местах, в ходе анализа, были обнаружены циануровая кислота (10 мг/л) и свободный хлор (0,4 мг/л). Циануровая кислота позволяет хлору, дольше сохраняться под воздействием солнечного света. Согласно различным исследованиям, хлор и его соединения могут спровоцировать опасные заболевания. Хлор также может угнетать жизненные функции различных обитателей водоема, что может привести к нарушению целостности экосистемы. Хотя значения и не находятся на критическом уровне, но выходят за диапазон нормы, количество этих веществ может увеличиваться, на это стоит обратить внимание. Загрязнение воды связано с мойкой машин в реке, использованием моторных лодок и т.п. Увеличение уровня органических соединений в воде, может спровоцировать неконтролируемое цветение воды, которое может повлечь за собой вспышки различных заболеваний у животных и людей, вызывать дисбаланс экосистемы. Вода в таком состоянии опасна не только как питьевая, но для купания также не пригодна, поскольку многие виды водорослей из тех, которые были найдены в ходе исследования в водоеме, например, *Anabaena sphaerica*, *A. variabilis*, *Microcystis viridis*, *Oscillatoria princeps*, вырабатывают различные токсины: гепатотоксины, нейротоксины и дерматоксины. Поэтому важно своевременно определять уровень загрязнения.

IN VITRO ВЛИЯНИЕ МИКРОПЛАСТИКА НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ В ЛИЗОСОМАХ ПЕЧЕНИ КРЫС

Е. М. Строчкова, А. М. Шитикова, С. А. Карева, Э. С. Бельских, Е. А. Судакова, Ю. А. Марсянова, А. А. Гордун

Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П.Павлова
Минздрава РФ, 390026, Рязань, ул. Высоковольтная, 9;
katrin-mandarin23@yandex.ru

Актуальность. Непрерывное использование пластика стало неотъемлемой частью повседневной жизни. В результате физических, химических и биологических процессов происходит его разрушение с образованием микропластика – твердых частиц размером от 1 мкм до 5 мм. МП способен проникать в организм человека через ЖКТ, дыхательную систему и при контакте с кожей. Показано, что МП вызывает окислительный стресс, развитие воспалительных заболеваний. Печень обладает детоксикационной функцией, тем не менее МП подвергается длительному распаду и способен к аккумуляции, что способствует необратимому повреждению гепатоцитов.

Цель. Изучение *in vitro* влияния МП на процессы окислительной модификации белков лизосом печени крыс.

Материалы и методы. Выделение лизосом осуществлялось из печени половозрелых крыс-самцов линии Wistar. После извлечения орган помещали в охлажденный 0,25 М раствор сахарозы, далее проводили гомогенизацию. Грубую фракцию лизосом получали методом дифференциального центрифугирования и использовали для *in vitro* инкубации. Полученные суспензии лизосом разделяли на 3 серии по 6 проб в каждой: первая серия – контрольная, инкубировалась в 0,25 М растворе сахарозы (среда выделения), вторая и третья серии инкубировались в растворе полистирольного МП с диаметром частиц 1 мкм в сахарозе с конечной концентрацией 5 мкг/мл и 25 мкг/мл соответственно. Каждая серия воспроизводилась дважды; инкубация проводилась на водяной бане (2 и 4 часа, $t = 37^{\circ}\text{C}$). После инкубации лизосомы повторно осаждали центрифугированием. Затем осадок (седиментируемая фракция) ресуспендировали в 0,25 М сахарозе с добавлением Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1%. Окислительную модификацию белков оценивали по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой. Концентрацию белка определяли по методу Лоури. По полученным данным строили спектр поглощения продуктов ОМБ и считали площадь под кривой, выраженной в условных единицах на грамм белка.

Результаты. Было обнаружено, что МП в концентрации 5 мкг/мл статистически значимо увеличивает уровень всех карбонильных производных в суспензии лизосом при 4-часовой инкубации по сравнению с группой контроля. МП в концентрации 25 мкг/мл вызывает рост АДНФГ и КДНФГ основного характера.

Выводы. Полученные данные указывают на потенциальную способность МП вызывать карбонильный стресс в лизосомах печени крыс.

FERRITIN-BASED FUSION PROTEIN SHOWS OCTAMERIC DEADLOCK STATE OF SELF-ASSEMBLY

**V. V. Sudarev¹, M. S. Gette¹, S. V. Bazhenov¹, O. M. Tilinova¹, E. V. Zinovev¹, I. V. Manukhov¹,
A. I. Kuklin^{1,2}, Yu. L. Ryzhykau^{1,2}, A. V. Vlasov^{1,2}**

¹Research center for mechanisms of aging and age-related diseases, Moscow institute of physics and technology, 141701, Dolgoprudny, Institutskiy per., 9;

Sudarev.vv@phystech.edu

²Frank Laboratory of Neutron Physics, Joint Institute for Nuclear Research, 141980, Dubna, Joliot-Curie, 6

Ferritin is a unique self-assembling globular protein, which is present in the majority of living organisms. One ferritin globule consists of 24 identical subunits, which rapidly and strongly interact with each other in natural living systems. Due to its unique structural and functional features ferritin is widely used in nanotechnology as a drug carrier. In particular, the drug can be loaded directly inside the globule, or the globule could be used as a carrier for a drug or vaccine itself. Nevertheless, both applications face with ferritin self-assembly – the process of globule formation from monomers, which molecular mechanisms still remain enigmatic.

The process of ferritin self-assembly is not completely clear nowadays. Only a few works speculate on the kinetics and intermediate oligomers of the process. Authors of different works claim contradictory statements. Thus, Kim et al. shows 10-meric and 20-meric oligomers, while Sato et al. suggests 6- and 12-meric oligomers. Such oligomers are mentioned only as possible intermediates in the pathway of globule formation, but not as a separate fraction in protein solution. There is only one type of stable intermediates except the globule itself, the dimer. The existence of so-called «deadlock» intermediate states is discussed in a number of works; however, they were not observed directly in experiments. One of such commonly described «deadlock» states is an octamer. Despite the mentions in the starting works on ferritin self-assembly, an octamer wasn't observed in literature before.

In this study we reveal missing octameric state of ferritin self-assembly. We fused a ferritin subunit with a SMT3 protein tag, a homolog of human Small Ubiquitin-like Modifier (SUMO-tag), which was taken to destabilize ferritin 3-fold channel contacts and increase ferritin-SUMO subunits solubility. We first obtained the octameric protein complex of ferritin-SUMO (8xFer-SUMO) and studied its structural organization by small-angle X-ray scattering (SAXS). Obtained SAXS data correspond well with the high-resolution models predicted by AlphaFold and CORAL software showing an octameric assembly around the 4-fold channel of ferritin without formation of 3-fold channels. Interestingly, three copies of 8xFer-SUMO do not assemble into 24-meric globules. Thus, we first obtained and structurally characterized ferritin-based self-assembling oligomers in a deadlock state. Deadlock oligomeric states of ferritin extend the known scheme of its self-assembly process, being new potential tools for a number of applications. Finally, our results might open new directions for various biotechnological platforms utilizing ferritin-based tools.

We acknowledge the support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement #075-03-2024-117, project FSMG-2021-0002).

ВЫДЕЛЕНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕЙТРОФИЛОВ СЕЛЕЗЕНКИ МЫШЕЙ

Х. Сунбули^{1, 2}, Л. А. Алексеева¹, О. В. Марков¹, Н. Л. Миронова¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8;

khetam.sounbuli.edu@gmail.com

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

Нейтрофилы играют важную роль во врожденном иммунитете. Они осуществляют свою антипатогенную активность посредством трех механизмов: фагоцитоза, дегрануляции и образования нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs). Одним из основных депо нейтрофилов является селезенка, и при развитии различных заболеваний в ней накапливаются нейтрофилы, которые могут отражать функциональное состояние иммунной системы. Например, во время развития опухоли в селезенке накапливаются опухолеассоциированные нейтрофилы, как противо-, так и про-опухолевых фенотипов. Однако информации о методиках выделения и функциональной эффективности нейтрофилов селезенки немного.

Здесь мы сравниваем четыре протокола выделения нейтрофилов селезенки мышей, основанные на центрифугировании на градиенте фиколла и иммуномагнитной селекции. Функциональность изолированных нейтрофилов была подтверждена на основании образования NET в ответ на различные активаторы и теста окислительного взрыва.

Селезенку и костный мозг мышей-самцов C57Bl/6 (3-4 месяца) собирали для приготовления клеточных суспензий. Выделение нейтрофилов осуществляли на градиенте плотности фиколла (1,077/1,119 г/мл или 1,083/1,090/1,110 г/мл) или с использованием иммуномагнитной отрицательной селекции (набор для обогащения нейтрофилов мыши EasySep™) или положительной селекции, когда суспензии клеток метили крысиным антимиоцином LybG, а затем инкубировали с магнитными бусинами, связанными с овечьим антикрысиным IgG (Dynabeads™). Меченые клетки разделяли в магнитном поле. Протоколы с использованием фиколла и иммуномагнитной негативной селекции приводили к получению нейтрофилов низкой чистоты (5-40%). При использовании протокола положительной селекции были выделены нейтрофилы селезенки с высокой чистотой (>95%) и жизнеспособностью (>90%). Выделенные из селезенки клетки были склонны к спонтанной активации по сравнению с нейтрофилами костного мозга, а также выбрасывали NETs в ответ на химические агенты (PMA, ионофор кальция A23187) и с меньшей эффективностью на физиологические активаторы (LPS). Анализ окислительного взрыва показал, что нейтрофилы способны к выбросу активных форм кислорода (ROS) при обработке A23187.

В заключение можно сказать, что нейтрофилы селезенки мышей рекомендуется выделить с помощью метода иммуномагнитной положительной селекции.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-14-00289.

ВЛИЯНИЕ ГАЗОВЫХ ПОТОКОВ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ИОНИЗАЦИИ НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ КРОВИ *IN VITRO*

А. В. Суровегина^{1, 2, 3}, В. В. Назаров^{2, 3}, А. К. Мартусевич^{1, 2, 3}

¹Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97;

surovegina_al@mail.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Целью исследования служила оценка диэлектрической проницаемости крови при обработке различными ионизированными и неионизированными газовыми потоками. Установлено, что неионизированные потоки гелия и аргона повышают проницаемость биологической жидкости. Ионизированные потоки демонстрируют более выраженные и специфичные сдвиги диэлектрической проницаемости крови.

Материал и методы исследования.

Материалом исследования служили 10 образцов крови практически здоровых добровольцев (20-45 лет). Каждый образец делили на 5 порций, первая из которых была контрольной (с ней не производили никаких манипуляций, кроме измерения диэлектрических параметров), остальные обрабатывали газовыми потоками (аргон, гелий, аргоновая и гелиевая холодная плазма). Длительность обработки 1 минута, время экспозиции – 5 минут.

Для оценки диэлектрической проницаемости использовали комплекс, обеспечивающий проведение ближнепольного резонансного СВЧ-зондирования биологических тканей.

Результаты исследования.

Зафиксирован статистически значимый рост диэлектрической проницаемости при воздействии неионизированных газов на рассматриваемую биологическую жидкость (на 8 и 7% для гелия и аргона относительно контрольного образца). Это может быть связано с нарастанием концентрации неэлектролитов в жидкой части крови. Напротив, воздействие гелиевой плазмы не изменяло проницаемость крови, а поток аргоновой плазмы уменьшал значение данного параметра (на 9% относительно интактного образца). По нашему мнению, подобная особенность действия аргоновой плазмы по сравнению с гелиевой обусловлена большей степенью ионизации первой (потенциал ионизации – 15,7 и 24,5 эВ) и, следовательно, реактивной генерацией в биологической жидкости повышенного количества активных форм кислорода и азота, опосредующих эффекты холодной плазмы в биообъектах. Это и предопределяет снижение диэлектрической проницаемости цельной крови при применении аргоновой плазмы.

Заключение.

Проведенные исследования позволяют заключить, что наличие ионизации и тип газаносителя непосредственно определяют характер их воздействия на модельный биологический объект. Установлено, что неионизированные потоки гелия и аргона повышают проницаемость биологической жидкости. Ионизированные потоки демонстрируют более выраженные и специфичные сдвиги диэлектрической проницаемости крови. Гелиевая холодная плазма способствует сохранению проводимости, а аргоновая плазма снижает изучаемый показатель.

СРАВНЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЦИСТЕИНА У УСТОЙЧИВЫХ И ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*

Л. В. Сутормина, Г. В. Смирнова, О. Н. Октябрьский

Институт экологии и генетики микроорганизмов УО РАН, 614081, Пермь, ул. Голева, 13;
lyubov-sutormina@mail.ru

Колибактериоз – инфекционное заболевание домашней птицы, вызываемое патогенными штаммами *Escherichia coli* АРЕС (Avian pathogenic *Escherichia coli*). Значительная часть из этих штаммов демонстрирует множественную устойчивость к антибиотикам, что представляет значительную угрозу промышленному птицеводству во всем мире, приводя к высокой смертности птиц. Поэтому поиск новых мишеней воздействия антибиотиков имеет решающее значение для разработки новых лекарственных средств и путей снижения антибиотикорезистентности.

Одним из направлений, активно развивающихся в последние годы, является изучение роли цистеина и его производных как факторов, влияющих на вирулентность бактерий и их чувствительность к окислительному стрессу и антибиотикам. Цистеин входит в состав белков, глутатиона и является источником восстановленной серы для многих других органических молекул. Обладая редокс-активными свойствами, он играет важную роль в регуляции активности ферментов, клеточной сигнализации, антиоксидантной защите и других метаболических процессах. На основании этого представляет интерес сравнить внутриклеточное содержание цистеина у устойчивых и чувствительных к антибиотикам штаммов бактерий.

Целью данного исследования была оценка чувствительности к антибиотику ципрофлоксацину (ЦФ) и определение уровня внутриклеточного цистеина у двух штаммов *E. coli*. Для экспериментов был выбран лабораторный штамм *E. coli* BW25113 из коллекции Keio, а также штамм *E. coli* АРЕС L-5859, выделенный из птиц, больных колибактериозом.

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) ципрофлоксацина определяли методом серийных разведений в планшетах. Для изучения влияния ЦФ на скорость роста бактерий культуры *E. coli* выращивали аэробно в конических колбах на минимальной среде М9 с глюкозой до середины логарифмической фазы роста (OD_{600} 0.4), затем вносили 3 мкг/мл ЦФ и инкубировали в течение 2 часов, измеряя оптическую плотность. Цистеин определяли по методу Gaitonde.

Лабораторный штамм BW25113 был чувствителен к ЦФ, значение МИК на среде М9 составляло 0.016 мкг/мл. Штамм АРЕС L-5859 проявлял устойчивость ко всем исследованным концентрациям антибиотика. Добавление 3 мкг/мл ЦФ в растущую культуру *E. coli* BW25113 вызывало быстрое снижение скорости роста и лизис части клеток через 90 минут инкубации, но не изменяло параметры роста штамма АРЕС L-5859 в сравнении с контролем. Уровень внутриклеточного цистеина в штамме АРЕС L-5859 был в 1.57 раз выше, чем у BW25113, и составлял 0.159 ± 0.003 и 0.101 ± 0.011 $\mu\text{M}/OD_{600}$ соответственно. Можно предположить существование взаимосвязи между повышенным уровнем внутриклеточного цистеина в клетках АРЕС L-5859 и устойчивостью этого штамма к действию антибиотика. Требуются дальнейшие исследования о влиянии метаболизма цистеина на устойчивость бактерий к антибиотикам.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-14-00093.

СРАВНЕНИЕ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ НАТИВНЫХ И МУТАНТНЫХ ФОРМ О-ДЕМЕТИЛАЗ СЕМЕЙСТВА CYP255A

А. Ю. Суханов, Г. А. Кунгуров, Э. Э. Валиахметов, Н. В. Трахтман, Ш. З. Валидов

ФИЦ Казанский научный центр РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31;

relox298@yandex.ru

В мире остро стоит проблема переработки лигниновых отходов, которые, являются основными отходами производства целлюлозы из древесины. Линин является нерегулярным биополимером, состоящим из ароматических мономеров (монолигнинолы), которые имеют О-метильные радикалы, затрудняющие расщепление ароматического кольца для дальнейшей деградации. В литературе этот этап описывают как «бутылочное горлышко» в процессе биологического разложения лигнина.

Одним из способов О-деметиляции монолигнинолов является использование цитохромных P450 ароматических О-деметилаз семейства CYP255a. Они отщепляют СН₃-группу с образованием формальдегида и свободной ОН- группы на ароматическом кольце.

Однако, нативные формы О-деметилаз CYP255a имеют ограниченное количество ароматических субстратов, с которыми они могут эффективно работать. При этом, монолигнинолы могут иметь различные радикалы по разным положениям, часть из которых не позволяют субстрату правильно связаться с активным центром. Сейчас известно несколько белков семейства CYP255a, которые работают с различными субстратами. Целью этой работы стало конструирование гибридной О-деметилазы семейства CYP255a, которая сможет эффективно проводить реакцию с различными монолигнинолами.

Для этого было проведено сравнение аминокислотных последовательностей и пространственных моделей белков GcoA, AgcA и SyoA, также проводился докинг с рядом субстратов: гваякол, сирингол и их алкильные производные. Эти данные позволили определить, какие аминокислотные остатки предположительно связываются с субстратом и определяют субстратную специфичность. Для этих положений были предложены замены, которые должны изменить активный центр в соответствии с поставленной задачей.

Нуклеотидная последовательность нативных генов целевых белков была оптимизирована и синтезирована *in vitro* в векторе pET-GB1, затем были попарно собраны О-деметилазы и совместимой редуктазы в векторе pJNTN-L методом Гибсона. Белки экспрессировали в *E. coli* DH5a с индукцией IPTG. Для экспериментов использовалась как культура *E. coli* DH5a с белками, так и очищенные белки.

Работа нативных и мутантных белков оценивалась качественно, по изменению цвета субстрата при окислении и по сдвигу пика поглощения белка при связывании с субстратом, количественно, по данным ВЭЖХ. В результате было показано, что эффективность работы дикой формы белка выше по сравнению с мутантной, но обладает большей специфичностью. Мутанты же, например, AgcA S165G, F166G, T167A, V294A, охватывают большую часть спектра желаемых субстратов, но при этом эффективность конверсии несколько ниже.

Работа выполнена в рамках выполнения проекта «Разработка рекомбинантного штамма на основе Pseudomonas putida PCL1760 для биокаталитической трансформации ароматических производных лигнина», финансируемого Министерством Науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-254 от 17.06.2022 г.).

LoRI – ХИМЕРНАЯ МЫШИНАЯ ФОРМА РЕКОМБИНАНТНОГО ИНГИБИТОРА РНКАЗ А, В И С

Д. А. Сухов

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Макляя, 16/10;
sukhovdim@yandex.ru

Интерес к получению ингибиторов рибонуклеаз связан с его широким применением в медицине. Особое внимание к данному исследованию было вызвано в связи с пандемией коронавируса SARS-CoV-2. Ингибитор требуется для ПЦР-диагностики, а также для выделения РНК в больших количествах. Высокое содержание цистеинов и образование нерастворимых белковых агрегатов-телец включения усложняет его получение в бактериальных системах. Получение активного препарата, стабильного при хранении, в связи с высокой чувствительностью ингибитора к окислению из-за большого количества восстановленных цистеинов, становится непростой задачей. Актуальность данной работы заключается в получении более устойчивого и стабильного ингибитора рибонуклеаз с высокой ингибирующей способностью.

Полученный новый химерный мышинный ингибитор рибонуклеазы представляет собой рекомбинантный белок с массой 63 кДа.

В настоящей работе описывается простой и эффективный подход, основанный на получении химерного белка путем добавления к плацентарному ингибитору мышцы N-концевого доведка – небольшого белка слияния тиоредоксина (Тгх), и гексагистидиновой метки на N-конце. В результате был получен рекомбинантный ингибитор рибонуклеаз (далее ингибитор LoRI – Laboratory optimized Ribnuclease Inhibitor). Данный метод позволяет увеличить выходы химерного белка в несколько раз по отношению к нативному и облегчает его очистку.

Полученный ингибитор был охарактеризован рядом методов, в качестве контроля был использован ингибитор рибонуклеаз RiboLock RNase Inhibitor Thermo Scientific. Определен рабочий температурный режим, проведена оценка ингибирующего эффекта в реакциях ПЦР, RT и ОТ-ПЦР. Также была оценена стабильность препарата при хранении в различных условиях, подобрана кинетическая модель Лайнуивера-Берка и по ней определена константа ингибирования. По результатам данных исследований можно сделать вывод, что новый химерный белок LoRI проявляет ингибирующую активность примерно на 20% выше коммерческого аналога.

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ФИТОГОРМОНОВ НА РОСТ СУСПЕНЗИОННЫХ КЛЕТОК *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. И НАКОПЛЕНИЕ ИМИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

А. А. Сухова, Д. А. Рыбин, А. А. Сёмин, Е. В. Березина, А. А. Брилкина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alinaismailova2000@bk.ru

Голубика щитковая (*Vaccinium corymbosum* L.) представитель семейства Вересковые, является перспективным растением для промышленного получения фенольных соединений (ФС) из-за высокого содержания флавоноидов и проантоцианидинов. Данные вторичные метаболиты можно получать из листьев и ягод растений, но наиболее экономически выгодным считается биотехнологический объект – культура суспензионных клеток. Скорость деления клеток и их дедифференцировку, а также синтез в них фенольных соединений можно регулировать с помощью экзогенных ауксинов и цитокининов. Цель работы – выявление оптимальных концентраций ауксинов и цитокининов для получения и культивирования наиболее перспективных линий суспензионных клеток голубики щитковой.

Суспензионные клетки получали из каллусов *V. corymbosum*, которые были индуцированы из листьев стерильных растений, размножаемых *in vitro*. Для инициации и выращивания каллусов использовали агаризованную питательную среду WPM с добавлением 2,4-Д и БАП в соотношениях: 1) 0.075/0.1, 2) 0.1/0.1, 3) 0.375/0.5, 4) 0.5/0.5, 5) 0.75/0.1, 6) 1/1, 7) 1.125/1.5, 8) 1.5/1.5 мг/л. Инициацию каллусов проводили в темноте в течение двух месяцев. После каллусы пересаживали и через месяц анализировали сырую и сухую массу и внешний вид. Суспензионные клетки получали путем переноса каллуса в жидкую питательную среду WPM с аналогичным составом фитогормонов и культивировали на орбитальном шейкере 120 об/мин в темноте. Для определения наиболее оптимального сочетания 2,4-Д/БАП для роста культур определяли количество клеток, сырую и сухую массу, а также уровень фенольных соединений (растворимых фенольных соединений ((РФС), флавоноидов (Фл), катехинов (Кат) и проантоцианидинов (Про)).

По внешнему виду и массе наиболее предпочтительными для инициации суспензионных клеток оказались каллусы, выросшие на средах с концентрациями 0.075/1, 0.1/0.1, 0.375/0.5, 0.5/0.5 и 0.75/1 мг/л – они были достаточно крупными, влажными, рыхлыми и светло-желтыми, а на более высоких концентрациях - меньшего размера и массы, темные и плотные.

Суспензионные клетки неоднозначно реагировали на разную концентрацию 2,4-Д и БАП в питательной среде. Наибольшую жизнеспособность (71%) клетки имели на среде с концентрацией гормонов 0.1/0.1 мг/л, у остальных – не менее 50%. При этом наибольшую массу клетки набирали на среде с концентрацией 0.075/0.1 мг/л – 5.25 г на 100 мл. Максимальное содержание ФС наблюдалось у клеток, выросших на 0.1/0.1 и 0.375/0.5 мг/л: РФС – 116 и 104; Кат – 23 и 25; Про – 15.9 и 13.6; Фл – 44 и 77.7 мг/г сухой массы соответственно.

Таким образом, культивирование суспензионных клеток *V. corymbosum* оптимальнее проводить при добавлении в среду ауксинов (2,4-Д) и цитокининов (БАП) в концентрации 0.075/0.1, 0.1/0.1 и 0.375/0.5 мг/л.

Работа поддержана грантом РНФ, соглашение 23-24-00403.

ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЛАВАЖА КАК МАРКЕРА ЭФФЕКТИВНОСТИ КВЧ-ТЕРАПИИ АДРЕНАЛИНОВОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ У КРЫС

Д. А. Тарасова, С. В. Копылова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dasha_tarasova_00_00@mail.ru

Отек легких – патологическое состояние полиэтиологической природы, характеризующееся усиленной трансудацией 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 цитологических показателей бронхоальвеолярного лаважа 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 адреналиновый 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». Расчет клеточного состава БАЛЖ проводили при исследовании нативного бронхоальвеолярного смыва после окраски его 0,1% раствора трипанового синего в камере Горяева. Было установлено, что в контрольной группе у крыс увеличилось количество нейтрофилов, лимфоцитов, эозинофилов, на фоне снижения количества легочных макрофагов, что характеризует развитие воспаления и отек легких.

При действии КВЧ-излучения наблюдалось снижение количества патогенных клеток, и имелась тенденция к увеличению легочных макрофагов. 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.

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОМОЙ

С. В. Тарасова¹, Н. А. Щелчкова^{1,2}, А. Н. Селиверстов²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
svetalana1biochem@gmail.com

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Заболеваемость различными типами глиом в мире составляет 10-13 случаев на 100 тысяч населения. Глиомы формируют гипоксическую среду, взаимодействуя с микроокружением мозга. Анаэробный метаболизм глиом затрачивает большое количество глюкозы для питания клеток, а также выделяет в межклеточное пространство нетипичные метаболиты промежуточного и конечного обмена, что может провоцировать нарушение межклеточных контактов, в том числе в структуре ГЭБ. Цель работы – изучение содержания короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в крови у пациентов с глиомой.

КЦЖК являются продуктами анаэробной ферментации неперевариваемых полисахаридов микробиотой кишечника. Из кишечника эти кислоты попадают в лимфатическую систему и кровеносные сосуды. КЦЖК способны проникать через гематоэнцефалический барьер и влиять на глиальные клетки мозга. К примеру ацетат, как питательное вещество в мозге, активно поглощается опухолевыми клетками и может способствовать пролиферации и выживанию глиомы, а бутират может снижать АФК путем усиления СОД, ингибируя прогрессирование опухоли. КЦЖК присутствуют при глиоме, однако количество каждой кислоты у пациентов с глиомой мало изучено.

В исследовании приняли участие 8 пациентов с диагностируемой глиомой в возрасте от 40 до 60 лет. Концентрацию короткоцепочечных жирных кислот (SCFA) определяли с помощью жидкостной хроматомасс-спектрометрии (жидкостный хроматомасс-спектрометр с тройным квадруполом Shimadzu LCMS-8050 с жидкостным хроматографом системы Shimadzu Nexera XR, Япония).

В ходе исследования было выявлено 12 короткоцепочечных жирных кислот: молочная, пропионовая, уксусная, масляная, изомасляная, янтарная, изовалериановая, валериановая, моногидрат глиоксиловой кислоты, малеиновая, пировиноградная, гликолевая. Отсутствовали такие жирные кислоты как: фумаровая, альфа-кетоглутаровая, яблочная, малоновая, лимонная. Максимум значений показали: молочная (88,7%-95,5%), уксусная (1,1%-11,5%) и гликолевая (0,23%-2,34%) кислоты, а минимум значений обнаружилось у масляной (0,003%-0,17%), изовалериановой (0,012%-0,06%), валериановой (0,008%-0,22%) и малеиновой (0,015%-0,86%) кислот.

Таким образом, был описан пул КЦЖК крови пациентов с глиомами с продолжительной задачей описания метаболизма данной группы пациентов.

МИКРОБИОТА МУРАВЬЕВ, ОБИТАЮЩИХ В ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А. К. Тарасюк, А. М. Петерсон

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83;
kotannat@yandex.ru

Муравьи очень широко распространены в природе. Некоторые виды успешно заселяют и жильё человека, выступая в качестве резервуаров и переносчиков различных микроорганизмов, в том числе и патогенных. Контроль микробиоты таких муравьёв является важной задачей санитарной микробиологии. Кроме того, микробиота муравьёв может включать виды, способные к синтезу различных метаболитов, необходимых человеку.

Объектом нашего исследования послужили 70 рабочих особей муравьёв, собранных в жилых помещениях на территории Саратовской области. Их идентификация показала, что они относятся к двум видам – фараонов муравей (*Monomorium pharaonis*) и дерновой муравей (*Tetramorium caespitum*).

Из организмов насекомых было изолировано 28 штаммов бактерий, которые на основании изучения их морфологических, культуральных и биохимических свойств были отнесены к 6 видам: *Bacillus psychrosaccharolyticus*, *B. soli*, *Lactobacillus apis*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Staphylococcus xylosus*, *Flaviflexus salsibiostraticola*. При этом *B. psychrosaccharolyticus* присутствовал во всех пробах. Наибольшие количественные показатели были у *S. xylosus* – 10^3 КОЕ в пробе.

Грибы из организмов муравьёв выделялись реже. Их доля в общем видовом разнообразии составила 37% у *M. pharaonis* и 28% у *T. caespitum*. Низкое содержание грибов в организмах насекомых может быть связано с синтезом фунгистатических метаболитов компонентами их бактериальной микробиоты. На основании анализа культуральных свойств и морфологии органов спороношения грибные изоляты были отнесены к трем видам – *Aspergillus candidus*, *Rhizopus microsporus* и *Scopulariopsis brevicaulis*. Наибольшую встречаемость и наиболее высокие количественные показатели имел *A. candidus* – 42% и 5 КОЕ в пробе соответственно.

Представители *Formicidae* могут оказаться опасными обитателями жилья человека из-за их способности переносить возбудителей заболеваний. Особенно стоит обратить внимание на фараонова муравья: этот вид тесно взаимодействует с человеческой пищей, контаминируя ее микроорганизмами. Именно с поверхности *Monomorium pharaonis* были выделены условно-патогенные для человека грибы – *Aspergillus candidus*, приводящий к возникновению аспергиллеза, и *Scopulariopsis brevicaulis*, вызывающий грибковые инфекции ногтей. Кроме того, с поверхности и из внутренней среды фараонова муравья выделялся один условно-патогенный вид бактерий – *Staphylococcus xylosus*. Это нормальный обитатель кожных покровов человека и животных, но в некоторых случаях он способен вызывать пиелонефрит.

ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ИЗМЕНЕНИЯ ФЕНОТИПА И СЕКРЕТОРНОГО ПРОФИЛЯ КЛЕТОК МИКРОГЛИИ И МАКРОФАГОВ НА МОДЕЛИ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА *IN VITRO*

А. В. Тимофеева, Э. Р. Ахметзянова, Э. И. Насыбуллина, Я. О. Мухамедшина

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

Травма спинного мозга (ТСМ) вызывает тяжелую дисфункцию центральной нервной системы, что влечет за собой как физические, так и социальные осложнения в жизни человека. В данной работе мы исследовали секреторный профиль клеток микроглии и макрофагов при моделировании ТСМ *in vitro* различной степени тяжести как в острый, так и в подострый период с определением их фенотипической принадлежности. Полученные данные могут выявить различия в реакциях клеток микроглии и макрофагов в зависимости от тяжести травмы и посттравматического периода, что в дальнейшем возможно применять для разработки персонализированной терапии.

Клетки микроглии получали из коры головного мозга новорожденных крысят, а макрофаги посредством дифференцировки моноцитов крыс костномозгового происхождения. На 5-е сутки культивирования к данным клеткам добавляли гомогенаты интактного и поврежденного спинного мозга крыс (ГСМ), выделенных из шейного (ШУ) и поясничного утолщений (ПУ), которые соответствовали легкой (ТСМ1.5) и тяжелой (ТСМ4) степени тяжести на 7 и 14 сутки после повреждения для моделирования ТСМ *in vitro*. Через 72 часа совместной инкубации был проведен иммуноферментный анализ культивируемых клеток микроглии и макрофагов с оценкой уровня секреции IL-1 β (M1) и IL-10 (M2). Проточная цитофлуорометрия исследуемых клеток была проведена с использованием антител к белкам CD40 (M1) и CD163 (M2).

Иммуноцитохимический анализ показал наличие экспрессии белков Iba-1 и CD16, являющихся пан-маркерами клеток микроглии и макрофагов, соответственно. При оценке секреторного профиля клеток микроглии, уровень IL-1 β был значительно повышен в группах с добавлением ГСМ из области повреждения всех исследуемых групп, а уровень IL-10 в данных группах, наоборот, был снижен. При добавлении ГСМ, полученных из ПУ, к макрофагам, уровень экспрессии IL-1 β был существенно выше во всех исследуемых экспериментальных группах, в то же время экспрессия IL-10 была стабильно высокой при добавлении гомогенатов, полученных из области повреждения и ПУ. Результаты проточной цитофлуорометрии показали, что количество клеток, экспрессирующих CD40 и CD163, при добавлении ГСМ из области ШУ групп ТСМ1.5 в макрофагах была снижена, однако при моделировании ТСМ4 вышеуказанный показатель был увеличен. При оценке процентного содержания CD40+/CD163+-клеток микроглии, исследуемый показатель был повышен при добавлении ГСМ ТСМ1.5 из области повреждения, однако при моделировании ТСМ4 вышеуказанный показатель был снижен. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что клетки микроглии и макрофаги вносят значительный вклад в секреторный профиль ткани при ТСМ, и данный ответ различен в зависимости от степени тяжести травмы, посттравматического периода и исследуемых областей спинного мозга.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 23-24-00348.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ ЗАГРУЗКИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

Ю. А. Тищенко^{1,2}, В. А. Русакова², А. С. Постовалова^{2,3}

¹Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж.И. Алфёрова РАН, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8;
ju-at@yandex.ru

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

³Университет ИТМО, Санкт-Петербург, просп. Кронверский, 49

Доксорубицин является антрациклиновым антибиотиком и обладает большим потенциалом в качестве терапевтического агента для лечения онкологических заболеваний. Однако в применении доксорубицина есть существенные ограничения, например, низкая специфичность препарата к раковым клеткам и ряд побочных эффектов. Отсюда следует необходимость использования носителей для таргетной доставки данного лекарственного средства.

Было проведено исследование эффективности загрузки доксорубицина для наноразмерных частиц на основе полимолочной кислоты (pPLA). Для этого препарат был инкапсулирован методом адсорбции в течение получаса. Была измерена эффективность загрузки, после чего были исследованы стабильность частиц и релиз доксорубицина в нейтральной (pH 7,4) и кислой средах (pH 5,1) на промежутках времени в 1,5 часа, 18, 24, 41 и 66 часов. Кроме того, частицы были характеризованы методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ).

По результатам исследования метод адсорбции показал эффективность загрузки 75%. Размер частиц pPLA на протяжении 66 часов находился в диапазоне от 150 нм до 230 нм. Скорость высвобождения доксорубицина была одинаковой при разных значениях pH. За 66 часов в обеих средах высвободилось по ~2,6%.

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда (No 24-25-00210 от 29.12.2023 г.).

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ ШИПОВНИКА ИГЛИСТОГО В МОДЕЛЬНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ

Е. В. Томтосова, Е. К. Румянцев, В. М. Николаев

Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, 677000, Якутск, ул.
Ярославского, 6/3;
ytomtsova@mail.ru

Избыток активных форм кислорода в клетке приводит к повреждениям макромолекул. Окислительный стресс лежит в основе многих заболеваний. Важное значение придается поиску биологически активных веществ и препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами. Антиоксиданты, растительного происхождения, отличаются относительной безопасностью и доступностью. Поэтому изучение антиоксидантных свойств растений является важным предметом исследования, для последующего применения в целях регулирования прооксидантных процессов в организме человека при различных патологических состояниях.

В рамках данного исследования нами были изучены антиоксидантные свойства экстрактов листьев, плодов и семян шиповника иглистого в модельной биологической системе при железо-индуцированном перекисном окислении липидов.

Растительное сырье было собрано осенью на территории Якутии. В качестве растворителя использовали спирт. Экстракцию осуществляли с помощью ультразвуковой бани. Изучение антиоксидантных свойств полученных экстрактов проводили в модельной системе желточных липопропротеидов. Перекисное окисление липидов индуцировали с помощью сульфата железа. Антиоксидантную активность экстрактов определяли по способности тиобарбитуровой кислоты взаимодействовать с продуктами перекисного окисления липидов с образованием окрашенного комплекса.

Результаты исследования показывают, что экстракты листьев, плодов и семян шиповника иглистого проявляют выраженные антиоксидантные свойства, таким образом ингибируя перекисное окисление липидов в модельной биологической системе. Установлено, что в исследовании наибольшую антиоксидантную активность проявляют экстракты плодов шиповника – 58,3%, сопоставимую с контрольным антиоксидантом ионолом – 38,6%. Примечательно, что в экстрактах семян и листьев наибольшая антиоксидантная активность наблюдалась в семенах – 49,4%, а в листьях составила – 32,9%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об антиоксидантной активности экстрактов листьев, плодов и семян шиповника иглистого в модельной системе желточных липопропротеидов.

МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ СИСТЕМ, ВКЛЮЧАЮЩИХ НАНОЧАСТИЦЫ МАГНЕТИТА И СЫВОРОТОЧНЫЙ АЛЬБУМИН, ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТОЙ ДЛЯ НАЦЕЛЕННОЙ ДОСТАВКИ В КЛЕТКИ-МИШЕНИ

А. В. Торопцева¹, М. Г. Горобец¹, М. А. Градова², М. И. Абдуллина¹, Б. Б. Батчаева¹, А. А. Ильиных¹, А. В. Колотаев², Д. С. Хачатрян^{1, 2}, А. В. Бычкова¹

¹Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4;

stropdiva@yandex.ru

²НИЦ «Курчатовский институт», 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

Исследование и разработка гибридных систем на основе наночастиц оксида железа (МНЧ), создающих предпосылки к магнитоуправляемости, нагреву и изменению контрастирования, является одной из наиболее перспективных технологий для диагностических и терапевтических применений в нанобиотехнологии, например, для активного транспорта лекарственных веществ (ЛВ) к раковым клеткам, гипертермии и визуализации опухоли. Модификация поверхности наночастиц устойчивым биосовместимым покрытием предотвращает нежелательную адсорбцию компонентов крови. Использование био вектора позволяет реализовать рецептор-опосредованную доставку ЛВ к клеткам-мишеням. Закрепление линкера на поверхности гибридной наносистемы позволяет обеспечить связывание с ЛВ, усилить терапевтическое воздействие на опухоль и снизить токсичность используемого лекарства.

В данной работе покрытие было получено с использованием человеческого сывороточного альбумина (ЧСА), поскольку он характеризуется высокой стабильностью и биосовместимостью. Реализация нацеленного транспорта системы осуществлялась с помощью N-гидроксисукцинимидного эфира фолиевой кислоты (мФК), так как рецепторы фолиевой кислоты экспрессируются некоторыми видами опухолей. В качестве линкера применялась стеариновая кислота (СК) за счет высокого сродства с сывороточным альбумином.

Подтверждение связывания мФК и ЧСА исследовано совокупностью физико-химических методов: спектрофлуориметрией и спектроскопией в УФ- и видимой областях. Показано, что в фосфатном буфере происходит изменение спектра поглощения системы относительно суперпозиции спектров отдельных компонентов, что подтверждает конъюгацию мФК и ЧСА. Взаимодействие веществ также проявляется в тушении пика флуоресценции аминокислотного остатка триптофана.

Были реализованы три стратегии получения системы на основе МНЧ, на поверхности которых иммобилизован ЧСА, связанный с мФК. Наиболее перспективными показали себя системы с последовательным связыванием МНЧ с альбумином и мФК. Оценка устойчивости и целостности покрытия из альбумина на поверхности МНЧ проводилась за счет добавления иммуноглобулина G, обладающего высоким сродством с поверхностью МНЧ. Метод Бредфорда позволил провести количественный контроль белка на поверхности МНЧ. Продемонстрировано создание гибридной системы с модифицированным устойчивым покрытием, количество белка, включенного в состав покрытия, на финальном этапе стратегии составило 107 ± 32 мкг на 1 мг МНЧ.

Взаимодействие СК с ЧСА оценивалось с помощью динамического светорассеяния. Было отмечено образование агрегатов с участием СК в отсутствие ЧСА в растворе и их снижение в присутствии ЧСА. Стадия добавления СК была включена в подготовку гибридных систем, моделируя связывание с гибридными системами лекарственных веществ.

Работы по созданию гибридных наносистем проводятся при финансовой поддержке Российского научного фонда № 22-75-10150, <https://rscf.ru/project/22-75-10150/>. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП «Новые материалы и технологии» ИБХФ РАН и ЦКП «Исследовательский химико-аналитический центр НИЦ «Курчатовский институт» при финансовой поддержке проекта Российской Федерацией в лице Минобрнауки России, Соглашение № 075-15-2023-370 от 22.02.2023.

ОЦЕНКА КОГНИТИВНОЙ САМООЦЕНКИ У ЛИЦ СРЕДНЕГО И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ В СОСТОЯНИИ ПОКОЯ И ПРИ СТРЕССЕ. ОЦЕНКА ОБЪЕКТИВНОСТИ САМООЦЕНКИ У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ

У. В. Точенова¹, С. М. Панкова², Е. В. Дорохов²

¹Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1;
uliana.tochenova.05@mail.ru

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

Аннотация: В исследовании оценивалась способность студентов к объективной самооценке при работе с текстом в покое и при действии стрессора, сравнивалась степень объективности самооценки у лиц с разными типами преобладающей вегетативной регуляции.

Актуальность: Большое значение имеет обнаружении связи самооценки с эмоциональной и социальной сферами, а также с другими физиологическими явлениями. В нашей работе была установлена зависимость колебаний самооценки от действия стресса. Проанализировав самооценку у симпатоников, ваготоников, нормотоников, мы выявили группы риска людей, склонных к неадекватному оцениванию собственных возможностей.

Цели: Установить колебания самооценки вследствие действия стрессора, выявить степень отклонения самооценки в зависимости от преобладающего влияния симпатической или парасимпатической НС у исследуемых.

Задачи: Провести исследование самооценки в покое и при действии стрессора, определить индекс Кердо у исследованных групп и установить склонность к изменению самооценки.

Материалы и методы: на обоих этапах использовался метод оперативной диагностики универсальных учебных умений. На 2 этапе во время написания ранее прочитанного текста, на студентов производилось воздействие стрессора (громких звуков). На 2 этапе проводился анализ объективности самооценки у симпатоников, ваготоников и нормотоников (разделения по результатам индекса Кердо).

Результаты исследования: На 1 этапе исследования преобладала завышенная самооценка над заниженной. На 2 этапе наоборот преобладала заниженная самооценка над завышенной. При анализе показателей у симпатоников, нормотоников, ваготоников выявлен различный показатель адекватности самооценки (у симпатоников она наименьшая, вследствие большой разницы между самостоятельной оценкой собственной работы, и данной нами оценкой; у нормотоников – среднее значение, у ваготоников, адекватность наибольшая).

Выводы: В процессе формирования самооценки имеется произвольный компонент, поэтому воздействие стресса способно изменить результаты исследования и вызвать колебание самооценки. Этот механизм тесно связан с эмоциональной сферой, формирующейся произвольно, очень восприимчивой к действию стресса. Колебания самооценки у симпатоников, ваготоников и нормотоников, можно объяснить влиянием эмоций. Наибольшие колебания самооценки выявлены у симпатоников, данное явление можно объяснить тем, что под действием стресса у симпатоников выявляется наиболее сильная реакция физиологических систем на стресс, вследствие чего снижается уровень интеллектуального контроля эмоций. Подобное снижение может обуславливать повышение эмоциональности, а повышенный уровень эмоциональности напрямую влияет на возникновение колебаний уровня самооценки и изменении ее объективности.

ПОСТСТРЕССОРНЫЙ АНАЛИЗ ПОВЕДЕНИЯ, ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И УРОВНЯ БЕЛКОВ IL-1 β И TNF В МОЗГЕ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Д. В. Трач¹, С. В. Новикова¹, Д. Т. Королевич¹, Б. А. Бегларян¹, И. Г. Шалагинова¹, Т. Г. Зачепило², Н. А. Дюжикова²

¹Балтийский федеральный университет им. И. Канта, 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14;

dianatrach@mail.ru

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

Стресс является одним из факторов развития постстрессорных расстройств, но механизмы его воздействия остаются неясными. Исследования показывают, что стресс связан с нейровоспалением и может играть важную роль в проявлении тревожных и депрессивных состояний. Интерлейкин 1 бета (IL-1 β) и фактор некроза опухоли (TNF) – провоспалительные цитокины, которые вырабатываются в организме при различных патологических состояниях, а также в ответ на стресс. Цель нашего исследования заключается в оценке изменений экспрессии провоспалительных цитокинов в мозге крыс с различным генетически обусловленным уровнем возбудимости нервной системы на разных сроках после стрессового воздействия.

Эксперимент проводился на самцах двух линий крыс в возрасте 5 месяцев: с высоким (ВП) и низким (НП) порогом возбудимости нервной системы. Животные принадлежат биокolleкции ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова». Животные были подвергнуты длительному эмоционально-болевному стрессу в соответствии с протоколом Гехта: каждый день в течение 15 дней животные подвергались воздействию 12 световых стимулов с вероятностью 50% подкрепления током. Через 7 и 24 дня после окончания стрессирования были проведены поведенческие тесты (n = 6 в каждой группе): открытое поле (ОП) и приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ), далее для оценки уровня экспрессии IL-1 β и TNF животные были декапитированы, из миндалины, гиппокампа и префронтальной коры правого полушария выделяли суммарную РНК (extractRNA, Evrogen, Россия), проводили обратную транскрипцию и оценивали уровень мРНК методом ртПЦР (BioRad C-1000). Соответствующие структуры левого полушария использовали для оценки уровня белков (наборы IL-1 β и TNF Cloud-Clone Corp., Китай) методом ИФА.

В тесте открытое поле двигательная активность у обеих линий снижается через 24 дня, на этом же сроке у обеих линий снижается исследовательская активность в тесте ПКЛ. Экспрессия TNF увеличивается в миндалине у высоковозбудимых крыс линии НП на 24 день после стресса как на уровне мРНК, так и на уровне белков. В гиппокампе мРНК TNF значимо выше у стрессированной группы линии ВП через 24 дня после стресса по сравнению с контролем. Уровень белка IL-1 β значимо увеличился только в миндалине стрессированных крыс линии НП через 24 дня после стресса, при этом экспрессия мРНК осталась на уровне контроля.

Финансовая поддержка: данное исследование было поддержано из средств программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» БФУ им. И. Канта и средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН (№ 1021062411629-7-3.1.4).

ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ НАТИВНЫХ И РАЗМОРОЖЕННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ

Т. В. Трубина¹, А. В. Дерюгина², М. Н. Иващенко^{1, 2}, А. И. Ерзутов¹

¹Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97;

tatanatrubina111@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

К настоящему времени наиболее успешная технология сохранения мужских гамет позволяет получить примерно 50% живых сперматозоидов после оттаивания. Процесс криоконсервации вызывает повреждения спермы, приводящие к дисфункции и изменению мембранной структуры сперматозоидов. Совершенствование протоколов криоконсервации позволило бы преодолеть множество проблем, связанных со снижением качества размороженной спермы. Ранее было показано, что молекулярный водород снижает окислительный стресс, обладает антиапоптотическим действием, стимулирует энергетический обмен.

Целью работы было изучение влияния молекулярного водорода на жизнеспособность нативных и размороженных сперматозоидов быков.

Материалом для исследований служила спермопродукция черно-пестрых быков. Сперму разбавляли стерильной средой «BioXcell». Для изучения влияния молекулярного водорода на сперматозоиды быков использовали «BioXcell», разведенный на водородной воде. Концентрация молекулярного водорода находилась в пределах 1,2-1,5 мг/л. Исследовали нативную разбавленную сперму, нативную разбавленную сперму, предварительно обработанную молекулярным водородом, сперму после глубокой заморозки и сперму после глубокой заморозки, предварительно обработанную молекулярным водородом. Для оценки качественных показателей сперматозоидов использовали спермоанализатор «Биола АФС-500». Статистическую обработку полученных данных проводили в программе BIOSTAT.

Добавление молекулярного водорода в среду для разбавления спермы и последующая заморозка изменяла функциональный статус клеток после размораживания – приводила к увеличению подвижности клеток, количества подвижных, быстрых сперматозоидов, снижению медленных клеток. Так, подвижность сперматозоидов после оттаивания была на 12% выше, средняя скорость сперматозоидов увеличилась на 9%. Количество сперматозоидов, имеющих прямолинейно-поступательное движение после воздействия молекулярного водорода увеличилось на 6,27%. Добавление молекулярного водорода в среду для разбавления нативной спермы не изменяло анализируемые показатели фертильности сперматозоидов.

Таким образом, установлено, что при добавлении молекулярного водорода к среде для криоконсервации сперматозоидов наблюдается улучшение показателей, отражающих оплодотворяющую способность эякулята.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта №23-26-00205.

СПОСОБНОСТЬ К КАЛЛУСО- И ОРГАНОГЕНЕЗУ *IN VITRO* РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

Н. А. Трушина, А. А. Печёрина, А. А. Брилкина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
t.natalia4@mail.ru

Мягкая яровая пшеница (*Triticum aestivum*, L.) является одной из важнейших сельскохозяйственных культур и вызывает большой научный и хозяйственный интерес; это обуславливает необходимость разработки эффективных подходов к ее культивированию *in vitro*. Особенности биотехнологии однодольных растений отличаются от двудольных, прежде всего тем, что микрклональное размножение требует образования каллусных клеток. Кроме того, получение каллусных клеток является важнейшей стадией генетической трансформации пшеницы для дальнейшего получения растений-регенерантов. Не все сорта пшеницы способны к формированию морфогенного каллуса и регенерации *in vitro*. Поэтому для успешной трансформации необходим подбор сортов, а также условий культивирования. Целью данной работы является подбор времени культивирования и состава питательной среды для каллусо- и органогенеза *in vitro* различных сортов мягкой яровой пшеницы.

Работу проводили на мягкой яровой пшенице 5 сортов: Дарья, Злата, Ирень 2, Новосибирская 16 и Нарру. В качестве эксплантов использовали зрелые зародыши, которые выделяли из зерновок. Зародыши культивировали на среде Мурасиге-Скуга (МС) или MCL7. В качестве индукторов каллусогенеза в среду добавляли ауксин 2,4-Д в концентрациях 0,5 или 2,5 мг/л. Зародыши пшеницы культивировали 5, 14, 21 или 28 дней в чашках Петри в темноте при температуре 24 °С. Для анализа способности к регенерации каллусы, полученные на предыдущем этапе, переносили на среды МС или L7 без добавления фитогормонов и культивировали при температуре 26 °С и фотопериоде 16/8 свет/темнота в течение 28 дней.

Худшая способность к индукции каллусов была выявлена на среде МС у всех используемых нами сортов. На среде MCL7 было получено наибольшее количество каллусов из зародышей сорта Ирень 2 (97%) и Нарру (92%) с добавлением 0,5 мг/л 2,4-Д. Сорт Новосибирская 16 также показал хорошую способность к индукции каллусов. Наименьшее количество каллусов было обнаружено у сорта Злата: 68% на питательной среде MCL7 с 2,5 мг/л и 70% с 0,5 мг/л 2,4-Д., Интенсивность образования побегов также была меньше на среде МС и не достигала более 10% от общего количества эксплантов. Наибольшая эффективность регенерации была выявлена при переносе 5 дневных каллусов на среду L7 сортов Нарру (61%) и Злата (68%), близкая эффективность регенерации была получена для сорта Новосибирская 16 (56%).

Таким образом, из пяти сортов мягкой яровой пшеницы для регенерации *in vitro* целесообразно использовать сорта Ирень 2, Новосибирская 16 и Нарру. Данные сорта проявляют наибольшую способность к каллусогенезу на среде MCL7 в присутствии 0,5 мг/л 2,4-Д, а также, показывают хорошую регенерационную способность при переносе 5-дневных каллусов на среду L7.

ИССЛЕДОВАНИЕ КРИСТАЛЛОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ МОЧИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТРИХИНЕЛЛЕЗЕ

А. Н. Тужилкин^{1, 2}, А. В. Суровегина^{2, 3}, О. Б. Жданова¹, А. К. Мартусевич¹⁻³

¹Вятский государственный агротехнологический университет, 610017, Киров, просп. Октябрьский, 133;

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Нижегородский государственный агротехнологический университет; 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Целью служило изучение результата дегидратационной структуризации мочи крыс при экспериментальном заражении их различным количеством личинок гельминта – *Trichinella spiralis*.

Исследование выполнено на 30 крысах, из которых были сформированы 6 групп по 5 животных в каждой: контрольная (интактная) и 5 опытных, крысы в которых были экспериментально инвазированы различными количествами личинок трихинелл (100, 200, 500, 1000 и 2000 соответственно). Через 4 недели безаппаратным методом получали мочу животных, и исследовали ее кристаллогенную и иницирующую активность методом тезиокристаллоскопии. В качестве базисного вещества при проведении тезиграфического теста использовали 0,9% раствор хлорида натрия. Результат дегидратации оценивали с качественных и количественных позиций.

Установлено, что кристаллогенные свойства мочи крыс существенно зависят от примененной инвазирующей дозы, однако данная зависимость нелинейна. В частности, динамика индекса структурности и кристаллизуемости образцов мочи, являющихся количественной мерой активности собственного кристаллообразования биосреды и характеризующих сложность структуропостроения и плотность кристаллических элементов в микропрепарате соответственно, указывает на умеренное увеличение кристаллогенного потенциала биосубстрата при введении минимальных количеств патогенного агента (100 личинок/животное) с дальнейшим выраженным ингибированием структуризации при применении 200 личинок и последующим прогрессивным нарастанием кристаллизуемости и индекса структурности практически до максимальных значений (при инвазионной дозе, составляющей 2000 личинок).

Это подчеркивает нелинейность связи между дозой трихинелл и характером вызываемых ею метаболических сдвигов (и, следовательно, изменений собственного кристаллогенеза), которая является непосредственным патогенетическим следствием фазности течения трихинеллеза и ускорением его развития под влиянием увеличения интенсивности инвазии.

Аналогичные, но меньшие по выраженности сдвигов тенденции были зарегистрированы при морфометрическом анализе тезиграмм мочи крыс сформированных групп. В этом случае основные количественные маркеры инициаторного потенциала биосреды – тезиграфический индекс и кристалличность – демонстрируют полностью изменения, полностью сочетаемые с динамикой указанных параметров кристаллоскопии ($r = 0,76$ и $0,68$; $p < 0,01$ соответственно). Сдвиги степени деструкции тезиграмм и выраженности краевой зоны фаций также аналогичны обнаруженным в кристаллограммах мочи животных.

На основании полученных данных можно заключить, что исследование кристаллогенных свойств и инициаторного потенциала биологических жидкостей организма способно стать индикатором наличия и глубины метаболических сдвигов, ассоциированных с наличием паразитоза.

Исследование выполнено в рамках гранта РФФ №24-26-00043.

СБОРКА ДНК-КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ТРАНСКРИПЦИИ КОЛЬЦЕВОЙ РНК

Т. В. Тулупова, Д. И. Боброва, А. Д. Перенков

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

tulupowa.tanja@yandex.ru

Кольцевые РНК (circRNA) представляют собой одноцепочечные РНК, отличающихся своей ковалентно-замкнутой топологией. В последние годы появилась информация о том, что circRNA могут выступать в качестве платформ для синтеза белка. CircRNA устойчивы к расщеплению экзорибонуклеазами, имеют длительный период полураспада, а добавление к их структуре альтернативных модификаций и сайтов, участвующих в инициации трансляции, делают данные молекулы перспективными с позиции разработки платформы для синтеза белка в клетках. В связи с этим целью данной работы явилась сборка ДНК-конструкции для синтеза кольцевой РНК.

Материалом работы явилась конструкция, которая представляет собой последовательность ДНК из 4 фрагментов, которые были синтезированы компанией Евроген (Россия). Конструкция включает IRES вируса HRV В3 и флуоресцентный зеленый белок eGFP. Фланкирующими фрагментами являются рибозимы-интроны I группы, служащие для формирования кольцевой молекулы. Плазмиды, содержащие вставки-фрагменты конструкции, выделяли из *E. coli* DH5a, используя набор Mini для выделения плазмидной ДНК из бактериальных клеток (Биолабмикс, Россия). Все ПЦР проводили, используя точную полимеразу TransStart FastPfu Fly (TransGen Biotech, Китай). Полную конструкцию объединяли с плазмидой pUC57 методом рестрикции-лигирования. Результаты сборки оценивали при помощи гель-электрофореза с маркером длин ДНК Sky High (Биолабмикс, Россия) и секвенированием по Сэнгеру.

Фрагменты конструкции амплифицировали, нарабатывали и очищали перед объединением их при помощи ПЦР с перекрывающимися праймерами. Размер получившейся молекулы составил около 2000 пн. Скрининг клонов *E. coli* DH5a, трансформированных плазмидой pUC57, объединенной с полной конструкцией, подтвердил успешную сборку. Результаты секвенирования установили, что объединение фрагментов конструкции в общую молекулу прошло успешно. Ошибок в нуклеотидной последовательности получившейся молекулы найдено не было.

Таким образом, была получена ДНК-последовательность, которая будет использована для транскрипции кольцевой РНК как платформы для трансляции белка в эукариотических клетках.

ТРИКУЛЬТУРА ГИППОКАМПА КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ

И. А. Тумозов, С. Г. Гайдин, В. Н. Мальцева

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пущино Московской обл., ул.

Институтская, 3;

ivantumoz@mail.ru

Согласно современным нейробиологическим концепциям, нейровоспаление, ключевыми участниками которого в центральной нервной системе являются астроциты и микроглия, играет важную роль в развитии нейродегенеративных заболеваний. Взаимодействие этих типов глиальных клеток не может быть в полной мере реализовано в нейрон-глиальных культурах, приготовленных в соответствии с классическими протоколами, поскольку популяция микроглии в таких культурах является минорной. Целью нашего исследования являлась модификация протокола приготовления смешанных нейрон-глиальных культур гиппокампа крысы, направленная на сохранение и пролиферацию микроглии в течение длительного срока культивирования.

Нами были проверены комбинации ростовых факторов, включающие трансформирующий фактор роста (TGF β), интерлейкин 34 (IL-34) макрофагальный колониестимулирующий фактор (MCSF), холестерин. Было установлено, что использование комбинации TGF β +IL-34+холестерин не приводило к увеличению количества микроглии, тогда как при использовании комбинации TGF β +MCSF+холестерин количество микроглиальных клеток заметно увеличивалось. Необходимым условием для индукции воспаления является зрелость микроглии. Для определения зрелости этого типа глиальных клеток в обычных и трикультурах (культурах, выращенных с использованием комбинации факторов TGF β +MCSF+холестерин) осуществляли инкубацию клеточных культур с липополисахаридом (LPS, 100 нг/мл) в течение 24-х часов с последующим подсчётом количества нежизнеспособных клеток. LPS вызывает активацию микроглии и инициирует выброс ею провоспалительных цитокинов, приводящих к гибели нейронов и астроглии в культуре преимущественно по апоптотическому пути. Наибольшая гибель клеток путём апоптоза наблюдалась в трикультурах по сравнению с обычными нейрон-глиальными культурами. Астроциты в трикультурах реагировали на добавление LPS повышением экспрессии GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок), нестина и виментина. Было также отмечено, что микроглия отвечает на добавление LPS повышением внутриклеточной концентрации Ca²⁺ и изменением морфологии. Так как интенсивное воспаление наблюдается в том числе и при травмах мозга, нами была оценена реакция астроцитов на механическое повреждение (нанесение царапины). В течение трёх суток с момента воздействия астроциты в трикультурах формировали подобие глиального рубца в месте повреждения, при этом морфология астроцитов по краям разреза была схожа с морфологией реактивных астроцитов и внутри области повреждения отмечалась концентрация микроглиальных клеток.

Таким образом, можно заключить, что трикультура гиппокампа может стать перспективной моделью для изучения молекулярных механизмов развития нейровоспаления.

Работа поддержана грантом РНФ №23-25-00014.

ВЛИЯНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ КИСЛОТ И ИХ ЛИПОФИЛЬНЫХ КАТИОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС
И. А. Турбина¹, А. Д. Игошкина¹, Н. В. Микина¹, М. В. Дубинин¹, А. А. Семенова¹, Р. Р. Халитова², Э. В. Давлетишин², Д. А. Недопёкина²

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
orins_al@mail.ru

²Институт нефтехимии и катализа РАН, 450075, Уфа, просп. Октября, 141

Природные тритерпеновые кислоты обладают широким спектром биологической активности. Особый интерес представляет их способность инициировать митохондриальный путь апоптоза в различных опухолевых клетках. Наибольшее внимание привлекают катионные производные тритерпеновых соединений, полученные при конъюгации этих соединений с трифенилфосфонием или гуанидиновыми группами, что может служить эффективным подходом к повышению биодоступности и селективности их биологического действия. В работе оценивалось влияние трифенилфосфониевых и гуанидиниевых производных тритерпеновых кислот (урсоловой, маслиновой и коросолиевой) на функционирование митохондрий печени крыс. Показано, что трифенилфосфониевые и гуанидиниевые производные обладают митохондриально-направленной активностью. Гуанидиниевые производные урсоловой кислоты G1, G7 и BG1 значительно подавляют дыхание митохондрий и снижают параметр дыхательного контроля. Анализ активности комплексов дыхательной цепи показал, что эти соединения подавляют суммарную активность комплексов I и III. Вместе с тем, производное G5 и трифенилфосфониевое производное маслиновой кислоты P4 в значительной степени индуцируют разобщающее действие, что также приводит к снижению параметра дыхательного контроля. Влияние исходных кислот, а также остальных конъюгатов менее выражено или отсутствует (в случае маслиновой кислоты). При оценке влияния соединений на скорость образования активных форм кислорода митохондриями показано, что конъюгаты P4, P5, G7 и маслиновая кислота снижают, а G1, G5, G7, BG1 и P4 напротив увеличивают скорость продукции H₂O₂ митохондриями. Самым мощным индуктором является конъюгат G5, стимулирующий продукцию H₂O₂ в пять раз. При оценке кальциевой емкости митохондрий было показано, что производные G1, G5 и BG1 достоверно увеличивают данный параметр, что может свидетельствовать о том, что эти соединения способны блокировать открытие МРТ-поры. В то же время производные маслиновой и коросолиевой кислот P4 и P5 снижают Ca²⁺-емкость.

Таким образом, действие исследуемых соединений различается по влиянию как на процесс окислительного фосфорилирования, так и на продукцию активных форм кислорода и индукцию митохондриальной поры.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-23-00098, <https://rscf.ru/project/23-23-00098/>.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ *MELILOTUS OFFICINALIS* L. В КАЧЕСТВЕ БИОГЕРБИЦИДОВ В ОТНОШЕНИИ СЕМЕЙСТВА *FABACEAE* НА ПРИМЕРЕ *HEDYSARUM ALPINUM* L.

К. В. Тюлькевич, С. И. Михайлова, А. В. Щукина, К. Е. Мусабеева

Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;

kristinatulkevic6@gmail.com

Пестициды влияют на окружающую среду и экосистемы, приводя к сокращению биоразнообразия. Кроме того, пестициды оказывают отрицательное воздействие на здоровье человека, вследствие накопления химических веществ в сельскохозяйственных продуктах и питьевой воде. Для включения в полный цикл выращивания востребованных растений, необходимо проводить поиски способов и методов снижения химической нагрузки на окружающую среду, в частности, разрабатывать и внедрять биорациональные средства защиты растений.

Целью исследования является выявление потенциальной биогебицидной активности водного экстракта *Melilotus officinalis* L. на рост и развитие растений семейства *Fabaceae* на примере *Hedysarum alpinum* L.

В качестве биогербицида использовали водный экстракт травы донника лекарственного, проявляющего фитотоксические свойства, приготовленный методом горячей экстракции. В работе использованы экстракты концентраций 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%.

Определение биогебицидной активности растительных экстрактов *Melilotus officinalis* проводили методом биотестирования на проростках *Hedysarum alpinum* семейства *Fabaceae*. Семенной материал копеечника альпийского был получен с репродукций СибБС ТГУ.

В результате исследования водных экстрактов донника лекарственного установлен угнетающий эффект корневой системы *Hedysarum alpinum*. Подавление ростовых процессов корней копеечника альпийского относительно контрольного варианта наблюдалось в концентрации экстракта 0,125% (-57,5%) и возрастало с увеличением концентрации 0,25% (-59,6%), 0,5% (-65,1%), 1,0% (-67,8%). Водный экстракт травы донника даже в минимальной концентрации (0,125%) оказывает высокий токсический эффект на рост корней *Hedysarum alpinum* (57,4%), с увеличением концентрации экстракта наблюдается возрастание индекса токсичности до 67,4% (1,0%).

В результате исследования аллелопатического влияния *Melilotus officinalis* на семена растений семейства *Fabaceae* установлено выраженное токсическое воздействие на проростки семян, что является предпосылкой для дальнейшего изучения, а также делает возможным изготовление из него биогербицидных средств.

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЕВОГО БУФЕРА ВАРТА НА ЭПИЛЕПТИФОРМНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА

Ф. В. Тюрин¹, А. Малибаева², И. Ю. Теплов¹, В. П. Зинченко¹

¹ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 3;

vpz@mail.ru

²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, 050040, Алматы, Казахстан, просп. аль-Фараби, 71

Равновесие между возбуждением и торможением в нейрональной сети обеспечивается в основном взаимодействием между ГАМКергическими и глутаматергическими нейронами. Тем не менее, при некоторых патологиях происходит гипервозбуждение нейронов в различных отделах мозга. В частности, эпилептиформная активность (ЭА) нейронов мозга возникает в культуре нейрон-глиальных клеток при ингибировании ГАМК(А)-рецепторов. ЭА сопровождается высокоамплитудными импульсами пачечной активности потенциалов действия в виде кластеров пароксизмального деполяризационного сдвига (PDS) и импульсами Ca^{2+} . Последние определяют интенсивность импульсной секреции нейротрансмиттеров. Предполагается, что наблюдаемые различия в амплитудах и формах импульсов внутриклеточного Ca^{2+} в разных типах нейронов при эпилептической активности, обусловлено наличием внутриклеточных кальций-связывающих белков в отдельных подтипах нейронов. Задерживая кальциевый сигнал, или ослабляя его амплитуду кальций-связывающие белки регулируют множество Ca^{2+} -зависимых процессов, в том числе, и эпилептиформную активность. Используя эту клеточную модель, мы исследовали эффект внутриклеточного кальциевого буфера ВАРТА на ЭА различных типов нейронов гиппокампа. Изменения мембранного потенциала нейронов, которые в данном случае представляли периодические высокоамплитудные пачки потенциалов действия, получившие название кластеров пароксизмальных деполяризационных сдвигов (PDS), измеряли методом patch-clamp в конфигурации whole-cell. В работе показано, что ВАРТА по-разному влияет на ГАМКергические и глутаматергические нейроны. В глутаматергических нейронах ВАРТА вызывал уменьшение длительности пачек ПД (количество PDS в кластере), но не изменял их амплитуду. Электрическая активность в этих нейронах блокировалась деполяризацией. В ГАМКергических нейронах ВАРТА вызывал уменьшение амплитуды плато деполяризации в пачках ПД (кластеров PDS), не изменяя их длительности. По сути, в ГАМКергических нейронах наблюдали переключение режима генерации кластеров PDS в классический режим генерации пачек ПД (берстов), и выход нейронов из режима эпилептиформной активности. Таким образом, в работе впервые показаны различные нейропротекторные механизмы действия внутриклеточного быстрого Ca^{2+} буфера в разных типах нейронов. Предполагается, что, применяя соединения, регулирующие амплитуду и длительность Ca^{2+} импульсов при ЭА, можно селективно управлять гипервозбуждением и синаптической пластичностью определенных популяций нейронов.

Данное исследование финансируется Комитетом по науке Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № AP19680470).

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММА *SCANDINAVIUM SP. M-37*

***А. И. Тютрина*^{1, 2}, *П. А. Журилов*^{1, 2}, *Д. Д. Кашина*^{1, 2}, *Е. А. Климентьева*^{1, 2}, *А. Н. Меньшикова*^{1, 2}, *Я. К. Немцева*²**

¹ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3;
atutrina0@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

К отряду *Enterobacterales* относятся грамотрицательные, факультативно-анаэробные, оксидазоотрицательные, каталазоположительные палочковидные бактерии. За последние годы число видов энтеробактерий было расширено с помощью методов молекулярной диагностики. Одним из последних дополнений к отряду является род *Scandinavium*, с типовым видом *Scandinavium goeteborgense*, описанный в 2019 году. Новый род и вид были описаны на основе единственного штамма, выделенного из раны пациента в Швеции. В 2022 году в Великобритании были описаны 3 новых вида бактерий, относящихся к данному роду: *S. hiltneri*, *S. manionii* и *S. tedordense*. Они были выделены из почвы ризосферы больных и здоровых деревьев, а также из «кровоточащих» ран *Tilia europaea*, *Tilia moltkei*, *Quercus rubra*.

Целью данной работы является определение таксономического положения штамма *Scandinavium sp. M-37*, выделенного из кишечника полевки обыкновенной (*Microtus arvalis*) в августе 2021.

Исследование включало секвенирование тотальной ДНК штамма на платформе Illumina, обработку полученных чтений и сборку генома, а также проведение филогенетического анализа, ДНК-ДНК гибридизации *in silico* (isДДГ) и анализ средней нуклеотидной идентичности (СНИ).

Чтения тотальной ДНК были получены в результате секвенирования на автоматическом секвенаторе HiSeq 1500. Сборка генома штамма M-37 содержала 137 контигов общей длиной 5,05 млн. п.н. и содержанием GC 54,48%. Идентификация штамма проводилась с использованием сервера Type (Strain) Genome Server, который реконструирует филогенетическое дерево. В результате было определено систематическое положение штамма M-37 до рода *Scandinavium*. Для установления отношений между представителями данного рода дополнительно были проведены isДДГ и анализ СНИ. При сравнении штамма M-37 со штаммами других представителей рода *Scandinavium*, опубликованными в базе данных GenBank, результаты isДДГ варьировали от 28,1% до 63%. Значение isДДГ <70% указывает на то, что исследованный штамм не принадлежит ни к одному из четырех описанных видов данного рода. Полученные результаты были подтверждены с помощью анализа СНИ, значение которого находилось в пределах от 82,21% до 94,90%. Для подтверждения принадлежности к одному виду значение СНИ должно быть строго > 95-96%.

Таким образом, было установлено, что исследуемый штамм *Scandinavium sp. M-37* является потенциально новым видом бактерий рода *Scandinavium*.

ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГОРОДСКИХ ДЕКОРАТИВНЫХ ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ

А. А. Умеренкова, А. С. Чердакова, С. В. Гальченко

Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, 390000, Рязань, ул. Свободы, 46;

cherdakova.alina@mail.ru

Рост темпов урбанизации приводит к увеличению техногенного прессинга на все компоненты урбоэкосистем, в том числе и почвы. Одними из наиболее опасных и распространенных загрязнителей городских почв являются тяжелые металлы (ТМ). При этом в городских условиях применимы далеко не все технологии восстановления загрязненных ТМ почв. Приоритет в этом случае должен отдаваться экологически безопасным природоподобным технологиям. Данным принципам отвечают фиторемедиационные технологии, основанные на применении декоративных культур, используемых для озеленения городов. Однако ремедиационный потенциал цветочных городских культур на данный момент изучен недостаточно.

Целью исследования являлась оценка перспектив применения декоративных цветочных культур для фиторемедиации городских почв, загрязненных ТМ.

Объектами исследования выступали цветочные культуры, широко применяемые для озеленения городов, сорта которых получены от представителей следующих родов: амарант (*Amaranthus* L.), бархатцы (*Tagetes* L.), цинерария (*Cineraria* L.) и сальвия (*Salvia* L.). Исследования проводились на территории крупного промышленного центра – г. Рязани. В разных функциональных зонах города (промышленная, транспортная, селитебная, рекреационная) были заложены мониторинговые площадки, с которых отбирались пробы почвы и фитомассы указанных культур. Во всех образцах почвы и фитомассы атомно-адсорбционным методом определялось валовое содержание ТМ: свинца, меди, цинка и кадмия. Критериями оценки ремедиационных свойств изучаемых растений выступали: коэффициент биологического поглощения (КПБ) ТМ фитомассой и коэффициент транслокации ТМ (соотношение содержания элемента в надземной фитомассе к содержанию в подземной фитомассе).

Исследованные декоративные культуры показали избирательность в поглощении и накоплении ТМ. Максимальные значения КПБ отмечались в отношении цинка и меди, что по-видимому связано с их высокой биофильностью. Наиболее активно данные металлы накапливали сальвия и цинерария. Амарант, помимо цинка и меди интенсивно накапливал еще и свинец.

Для всех изученных культур характерна миграция ТМ (за исключением кадмия) в надземную фитомассу. Наиболее активно накапливается в надземной фитомассе свинец. Цинк и медь распределяются между органами растений более равномерно. Только для амаранта, характерно накопление в надземной фитомассе цинка, а для бархатцев меди. Ввиду низкого содержания кадмия в образцах фитомассы явных закономерностей процессов его транслокации выявить не удалось.

Таким образом, среди исследованных декоративных цветочных культур наибольшей способностью к накоплению ТМ в фитомассе обладают сальвия, бархатцы и амарант, что указывает на перспективы их применения в качестве ремедиаторов городских почв.

Исследования были проведены в рамках реализации проекта, поддержанного грантом РФФИ № 15-05-04554 «Фиторемедиация городских почв, загрязненных тяжелыми металлами, декоративными цветочными культурами и злаками газонов».

СИСТЕМЫ ВРЕМЕННОГО ПОГРУЖЕНИЯ КАК СПОСОБ ИНТЕНСИФИКАЦИИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ *MISCANTHUS X GIGANTEUS*

Д. В. Усачев^{1,2}, А. А. Калинина¹, А. В. Аверина²

¹Нижегородский государственный технический университет им. П. Е. Алексеева, 603155,
Нижний Новгород, ул. Минина, 24;

dmitryusachev28@yandex.ru

²ООО «Меристема», 603116, Нижний Новгород, ул. Чехова, 1

Miscanthus x giganteus – многолетнее травянистое растение из семейства *Poaceae*. Культура обладает высоким потенциалом получения биомассы, которая находит свое практическое применение при производстве топлива, а также в целлюлозно-бумажной и строительной промышленности. Традиционным методом размножения *Miscanthus x giganteus* является деление корневищ, однако скорость размножения сравнительно низкая. Благодаря развитию биотехнологии стало возможно получать посадочный материал путем микроклонального размножения в условиях *in vitro*. В промышленных масштабах микроразмножение на полутвердых питательных средах трудоёмкое и дорогостоящее, перспективным направлением является использование жидких сред. Системы временного погружения (СВП) обеспечивают программируемый частичный или полный контакт между эксплантами растений и жидкой средой, благодаря чему открывается возможность автоматизации процессов культивирования *in vitro* с одновременным увеличением количества микроклонов. В связи с этим, целью исследования являлась оптимизация и интенсификация микроклонального размножения *Miscanthus x giganteus* с применением СВП.

В качестве объекта исследования выступала культура *Miscanthus x giganteus* сорта «Камис» из *in vitro* коллекции лаборатории микроклонального размножения ООО «Меристема». Растения культивировались в лабораторных условиях (16-часовой фотопериод, 22°C) на полутвердой агаризованной среде состава Мурасига-Скуга с добавлением 6-бензилоаминопурина, и на жидкой среде аналогичного состава с использованием СВП. Работа системы осуществляется за счёт двух воздушных компрессоров с электромагнитными клапанами, работа которых регулируется при помощи электронных таймеров согласно следующему режиму: погружение каждые 4 часа на 1 минуту, аэрация – каждый час в течении 4 минут. Спустя 40 дней культивирования оценивали коэффициент размножения и среднюю массу побегов, выращенных двумя способами.

Было выявлено увеличение коэффициента размножения растений *Miscanthus x giganteus* в 2,5 раза и средней массы побегов в 2,9 раз при культивировании эксплантов на жидкой среде в СВП по сравнению с выращиванием на полутвердой агаризованной среде. Доступность питательных веществ и воды является основным преимуществом СВП за счет использования жидкой питательной среды, а регулярное обновление воздушной среды внутри культивационного сосуда способствовало оптимизации условий газообмена.

Таким образом, использование систем временного погружения представляет собой перспективный инструмент микроклонального размножения с целью организации крупномасштабного производства качественного посадочного материала *Miscanthus x giganteus*.

РАЗРАБОТКА ПРОТОТИПА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ НА ОСНОВЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСА

А. С. Устинова, А. Г. Маланьева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
ustinovanna51@mail.ru

Африканская чума свиней (АЧС) – вирусное заболевание домашних свиней и диких кабанов, характеризующееся геморрагической лихорадкой, которая может привести к летальному исходу. Разработка безопасной и эффективной вакцины против АЧС является важным и приоритетным направлением биологической науки. В настоящее время интересной технологией для создания эффективных вакцин является использование вирусных векторов. В своих исследованиях нами применялся аденоассоциированный вирус серотипа 2 (AAV2), который является многообещающей основой для разработки вакцины против АЧС.

Цель этого исследования – создание прототипа вакцины против АЧС на основе AAV2.

Материалы и методы

Разработка прототипа состояла из 3 этапов. Первый этап – масштабирование плазмид для сборки вирусной конструкции. Второй этап – сборка вируса из плазмид. Третий этап – оценка качества сборки полученной вирусной конструкции. Масштабирование экспрессионных векторных плазмид и плазмиды с целевым геном проводилась с помощью *E. coli* TOP10 (Invitrogen, США). Полученные плазмиды были выделены с помощью набора для выделения плазмидной ДНК из бактериальных клеток «Plasmid-250-mini» (Биолабмикс, Россия). Методом электрофореза ДНК в агарозном геле был проведен рестрикционный анализ плазмиды с целевым геном. Рекомбинантный аденоассоциированный вирус получали с использованием кальций-фосфатного метода. Была проведена ко-трансфекция тремя плазмидами (плазмида с целевым геном, rAAV-RC и rHelper) в клетках AAV293. Титр вируса определяли с помощью ПЦР-РВ. Для этого применяли праймеры ITRs. Для изучения эффективности полученной вирусной конструкции проводили трансдукцию клеток НЕК293, далее оценку проводили при помощи ПЦР-РВ, определяли содержание белка CD2v (90кДа), который обуславливает гемадсорбирующие свойства вируса.

Результаты

Для проведенной работы использовали плазмиду с целевым геном белка CD2v (90кДа). Рестрикционный анализ показал, что полученная плазмида соответствовала по своему составу заданной карте плазмиды. ПЦР-РВ трансдуцированных клеток полученным вирусом показала наличие целевого гена в зараженных НЕК. Проведенное исследование продемонстрировало потенциальную возможность использования генетических конструкций на основе AAV2 для доставки гена вируса АЧС в культуру клеток *in vitro* и может лечь в основу создания прототипа вакцины против АЧС на основе AAV2.

Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЭЛЕКТРОРЕТИНОГРАММЫ *LYMNAEA STAGNALIS* ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ ЛИДОКАИНА И QX314

В. С. Фалеева, М. В. Сафонов, В. В. Жуков

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14;
faleevalerie@yandex.ru

Обычно анестезирующее действие лидокаина объясняется блокированием воротного механизма потенциал-зависимых натриевых (NaV^+) каналов. Однако нарушение возбудимости мембраны центральных нейронов моллюска *Lymnaea stagnalis* под влиянием лидокаина происходит скорее из-за нарушения работы натрий-водородного (Na^+/H^+) обменника, чем уменьшения управляемой напряжением натриевой проводимости мембраны. Липофильность лидокаина способствует проникновению его молекул через мембраны клеток, что позволяет им захватывать H^+ и нарушать процесс удаления Na^+ из цитоплазмы. Четвертичное аммониевое производное лидокаина – QX314 плохо проникает в клетку и поэтому оказывает незначительное влияние на изменение содержания Na^+ в цитоплазме.

Целью данной работы стало исследование влияния лидокаина и QX314 на электроретинограмму (ЭРГ) изолированного глаза *L. stagnalis*, клетки сетчатки которого обладают как фоторецепторным механизмом, так и способностью генерировать потенциалы действия. Электрические реакции глаза на вспышки света длительностью 100, 300 и 500 мс регистрировали всасывающим электродом в режиме постоянного тока. Эффекты применяемых веществ были исследованы в диапазоне концентраций 0.5-10 мМ.

В качестве показателя эффективности веществ были взяты: амплитуда медленной волны ЭРГ (A) и величина стандартного отклонения (σ) функции Гаусса, аппроксимирующей распределение амплитуд электрического потенциала в диапазоне частот 10-500 Гц.

Присутствие лидокаина оказывало достоверное снижение A в концентрациях 5-10 мМ, а снижение σ наблюдалось во всем диапазоне применяемых концентраций. Введение в физиологический раствор QX314 в концентрации 10 мМ не оказывало статистически значимых изменений A, однако выявлено достоверное уменьшение σ во всем диапазоне применяемых длительностей световой вспышки.

Основываясь на полученных результатах, можно предположить о наличии различных механизмов воздействия лидокаина на медленную волну и импульсную активность ЭРГ.

1. Ключевую роль в изменениях параметров ЭРГ играет подавление лидокаином импульсного компонента, что, вероятно, связано с накоплением Na^+ в цитоплазме в результате нарушения работы Na^+/H^+ обменника и последующей инактивации NaV^+ каналов.

2. Уменьшение амплитуды ЭРГ в присутствии лидокаина объясняется снижением трансмембранного градиента концентрации Na^+ из-за накопления этого иона в цитоплазме.

3. Низкая эффективность QX314 связана со слабой растворимостью в липидах.

ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ, ЛИЗИРУЮЩИХ ПАТОГЕНЫ ГРУППЫ ESCAPE

М. С. Федорова, Г. И. Муталлапова, З. А. Азнабаева, В. Н. Ильина, Е. Ю. Трizza,
Н. Д. Закарова, Н. С. Кишкимбаева, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;

На сегодняшний день широкое распространение инфекционных заболеваний во всём мире связано с быстрым развитием бактериальной антибиотикорезистентности, вызванной активным использованием антибиотиков, поэтому поиск и разработка новых и альтернативных подходов антимикробной терапии является актуальной задачей. Одним из перспективных терапевтических подходов для борьбы с внутрибольничными инфекциями, вызванными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью является использование бактериофаговой терапии.

Известно, что естественные водоемы и сточные воды являются активным источником бактерий и бактериофагов. В данном исследовании проводился поиск, выделение из водоемов бактериофагов, специфичных в отношении условно патогенных микроорганизмов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*. Для выделения бактериофагов проводили отбор проб воды из рек Кусюкла (Республика Башкортостан) и Малая Кокшага (Республика Марий Эл), озера Кабан и сточных вод (Республика Татарстан) с последующей фильтрацией и оценкой вирулентных свойств фагов на двухслойном агаре. Следующим этапом оценивали вирулентные свойства полученных бактериофагов в отношении клинических изолятов бактерий. Результаты показали высокий уровень литической активности фаголизатов, полученных из рек Малая Кокшага, Кусюкла, озера Кабан и сточных вод в отношении *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *E. sakazakii*, *E. coli*.

Таким образом, нами были выделены фаголизаты *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *E. sakazakii*. В дальнейшем планируется идентификация единичных бактериофагов (описание морфологии, молекулярных характеристик) и оценка их антимикробной активности в сочетании с антибактериальными препаратами.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM2022-0017.

ОЦЕНКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК СЕЛЕЗЕНКИ ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ЛАМПОЙ И ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМОЙ

К. М. Файос Баррионэво, А. С. Асманкина, И. П. Иванова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kamifiallos@mail.ru

Расширилось использование ультрафиолетового излучения и газовой плазмы, достигнув широкого спектра медицинских и биологических применений. Известно, что УФ-излучение и излучение плазмы разряда вызывают образование биологически активных продуктов, которые, среди других эффектов, вызывающих нестабильность клеток, могут вызывать лизис белков. Поэтому важно оценить состояние иммунитета после воздействия этих факторов.

В связи с этим целью исследования является оценка фагоцитарной активности мононуклеаров селезенки после УФ-облучения и облучения газоразрядной плазмой.

Для исследования мононуклеарные клетки были выделены из селезенки интактных крыс линии Вистар в возрасте от 6 до 9 месяцев. В физиологическом растворе готовили суспензии клеток до оптимальной рабочей концентрации 0,02 г/мл. Клетки подвергали воздействию ультрафиолетовым излучением (УФ-лампа) и излучением плазмы (Пилимин – ИР-50) в течении 30 и 60 минут.

Для оценки активности фагоцитоза аликвоты облученных образцов и раствор латекса и инкубировали в течение 15 минут при 37°C. Затем готовили мазки и окрашивали их по Романовскому-Гимзе. Результаты оценивали методом микроскопии, анализируя показатели процента фагоцитоза и фагоцитарного числа.

Показано, что УФ-излучение оказывает угнетающее действие на фагоцитоз в зависимости от времени воздействия, так как в суспензии клеток, подвергнутой УФ-излучению в течение 30 мин, процент фагоцитов снижается на 15%, а при экспозиции в течение 60 мин – на 28% по сравнению с контролем. Облучение ИР-50 снижало процент фагоцитов до 21%, только после 60 минут.

Облучение клеток в течение 30 мин независимо от источника увеличивало фагоцитарное число в 2 раза, а воздействие в течение 60 мин снижало в 3,5 раза по отношению к контрольной группе.

Таким образом, можно заключить, что излучение плазмы и ультрафиолетовое излучение, снижают фагоцитарную активность мононуклеаров селезенки.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА *SPOUT1* НА ПРОЦЕССЫ КОРТИКОГЕНЕЗА

А. Е. Филатьева¹, П. Е. Анисимова¹, Н. Н. Митина¹, Р. Маруфиан², В. С. Тарабыкин³, Е. В. Кондакова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
filja.a@mail.ru

²Институт неврологии Университетского колледжа Лондона, WC1E 6BT, Лондон, Великобритания, Гауэр-стрит

³Институт клеточной биологии и нейробиологии Университетского медицинского комплекса Шарите, 10117, Берлин, Германия, ул. Шаритеплац, 1

Процесс кортикогенеза критически важен для правильного функционирования мозга. На этот процесс могут влиять как тератогенные, так и генетические факторы, вызывая врожденные пороки развития нервной системы. Одним из генов, мутации в нуклеотидной последовательности которого приводят к развитию таких нарушений, как микроцефалия, судороги и умственная отсталость, является ген *Spout1*. Предполагается, что белковый продукт данного гена необходим для ассоциации центросом с полюсами веретена деления во время метафазы. Однако, молекулярные механизмы патогенеза, приводящие к нарушениям развития нервной системы у пациентов с мутацией в гене *Spout1*, на данный момент не изучены.

Целью данной работы является исследование влияния инактивации гена *Spout1* на процессы кортикогенеза.

В экспериментах для инактивации гена *Spout1* в кортикальных предшественниках *in vivo* использовали метод *in utero* электропорации. На 13 день гестации в боковые желудочки головного мозга эмбриона мыши линии СЗН вводили плазмидный конструкт, экспрессирующий shRNA против мРНК *Spout1*. Для отслеживания электропорированных клеток одновременно инъецировали плазмиду, содержащую кДНК GFP. Через 24 часа после электропорации беременным самкам внутрибрюшинно однократно вводили синтетический нуклеозидный аналог тимидина, бромодезоксиуридин (BrdU). Через 24 часа после инъекции BrdU осуществляли выделение и фиксацию образцов головного мозга, которые впоследствии использовались для изготовления гистологических препаратов.

При помощи иммуногистохимии срезы мозга были проанализированы на наличие клеток, дважды положительных на GFP, и маркер пролиферирующих клеток – Ki67. Дважды положительные клетки – это часть неокортикальных клеток, трансфицированных таргетными конструктами, и все еще остающихся в клеточном цикле через 48 часов после электропорации. В контрольном эксперименте процент таких клеток составил 20% от всех GFP-положительных клеток. В экспериментах с электропорацией shRNA против мРНК гена *Spout1* доля клеток, которые не вышли из митотического цикла, была удвоена по сравнению с контрольными условиями. Клетки, окрашенные антителами к BrdU находились в митотическом цикле через 24 часа после электропорации. Процент дважды положительных клеток к GFP и BrdU в опытных образцах составил 50%, по сравнению с контрольными образцами, где процент дважды положительных клеток составил 33%.

Полученные результаты указывают на то, что инактивация гена *Spout1* в делящихся клетках приводит к задержке выхода клеток из митоза и нарушению миграции нейрональных предшественников. Следовательно, можно предположить, что функция данного гена заключается в правильном и своевременном прохождении клеточного цикла.

Исследование выполнено при поддержке министерства науки и высшего образования РФ (грант № FSWR-2023-0029).

АНАЛИЗ ПУТИ БИОСИНТЕЗА ТРЕГАЛОЛИПИДНЫХ БИОСУРФАКТАНТОВ ШТАММА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS X5*

А. С. Филиппова

Тулский государственный университет, 300012, Тула, просп. Ленина, 92;
a_filippova_01@vk.com

Биосурфактанты (биоПАВ) – это поверхностно-активные соединения биологического происхождения, обладающие способностью собираться на границе раздела двух фаз и снижать поверхностное натяжение между ними. Для *R. erythropolis X5* показан синтез сукуиноилтрегалолипидного биосурфактанта, состоящего из фрагмента трегалозы и остатков октановой, декановой и янтарной кислот при культивировании на минеральной среде Эванса, содержащей гексадекан. Преимуществами биоПАВ по сравнению с синтетическими ПАВ являются меньшая токсичность, биodeградируемость, снижение поверхностного натяжения, высокая стабильность и биосинтез из возобновляемых источников энергии. В настоящее время они нашли применение в очистке сточных вод, разрушении биопленок, таргетной доставке лекарственных средств, фармпрепаратах, косметике, пищевой промышленности.

Целью работы являлось проведение анализа генома штамма *R. erythropolis X5* для составления пути биосинтеза биосурфактантов.

Для проведения анализа был использован геном штамма *R. erythropolis X5*, состоящий из хромосомы (GenBank NZ_CP044284.1) и плазмиды pRhX5 (GenBank NZ_CP044283.1).

В результате анализа геномных данных было установлено, что гены, формирующие путь синтеза биоПАВ расположены как на хромосоме, так и на плазмиде. Так, для синтеза фрагмента трегалозы, в геноме закодированы несколько генов, которые включаются в зависимости от субстрата: синтез из глюкозы осуществляется под действием *otsB* (2 копии), F6X56_RS07120, F6X56_RS08650, из гликогена – под действием оперона *treY, treZ, glgX* (2 копии), из мальтозы и мальтодекстринов – под действием *glgP, glgB, glgC, glgA*, F6X56_RS08750, F6X56_RS21790, F6X56_RS24310. Синтез жирных кислот при росте на гексадекане осуществляется под действием алкан-1-монооксигеназы (*alkB*), алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы. Присоединение остатков жирных кислот к трегалозе осуществляется под действием трегало-2-сульфат ацилтрансферазы *rapA2* и к сульфотрегалозе под действием ацилтрансферазы *rapA3*. Сульфирование трегалозы происходит под действием трегалозо-2-сульфотрансферазы.

В результате проделанной работы в геноме штамма *R. erythropolis X5* были обнаружены гены, предположительно формирующие путь синтеза трегалолипидных биосурфактантов. В дальнейшем полученные сведения могут быть применены для увеличения синтеза данных соединений в используемом штамме.

Работа выполнена в рамках гранта ректора ТулГУ для обучающихся по образовательным программам высшего образования – программам магистратуры, номер БТ/23/04/ГРР_М от 12 декабря 2023.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БИОКОМПОЗИТОВ – ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ЖИВЫХ КЛЕТОК В МАТРИЦЫ ИЗ ПОЛИОЛАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТИТАНА

Е. С. Филиппова

Тулский государственный университет, 300012, Тула, просп. Ленина, 92;

e_filippova03_01@vk.com

Инкапсуляция клеток в инертные биосовместимые материалы предоставляет множество преимуществ перед использованием свободных клеток или их адгезии на двумерных поверхностях. Целые клетки микроорганизмов, заключенные в гидрогели, содержат весь необходимый ферментативный комплекс, белки и транспортные механизмы, что важно для проведения биохимических реакций, трудно воспроизводимых *in vitro*, а также для эффективного производства желаемых вторичных метаболитов. Преимущественно для ферментов используют органические природные и синтетические материалы на основе альгината кальция, каррагенана, хитозана. Микроорганизмы в природе иммобилизованы в неорганические матрицы. Для получения неорганических систем широко используют методы золь-гель синтеза, которые реализуются в мягких условиях. Традиционный подход приводит к повреждению целых клеток вследствие образования побочных продуктов гидролиза и конденсации исходных соединения, а формирование жестких структур неорганической матрицы на их поверхности может приводить к лизису клеточных мембран. В настоящее время особый интерес уделяется стратегиям, направленным на формирование неорганических частиц у поверхности клеток при участии структурообразующих компонентов (глицерин, природные и синтетические гидрофильные полимеры). Одним из перспективных материалов для инкапсуляции клеток является органо-неорганический гель на основе диоксида титана, обладающий антибактериальными и фотоактивными свойствами и представляет перспективную область разработок новых технологий для биотехнологии и медицины.

В работе в качестве матрицы для инкапсулирования микроорганизмов различных типов использовали полиолатное соединение титата – полиэтиленгликолят титата в 10-кратном избытке ПЭГ (ПЭГТ). В ходе гидролиза и поликонденсации ПЭГТ не выделяются цитотоксичные продукты, что важно для сохранения жизнедеятельности целых клеток. Объектами инкапсулирования являлись микроорганизмы различного строения клеточной стенки: дрожжевые клетки – *Ogataea polymorpha* ВКМ У-2559, бактерии – *Rhodococcus erythropolis* X5 (ВКМ Ас-2532D), и водоросли дикого штамма *Chlamydomonas reinhardtii* СС-124 [137с]. Жизнеспособность инкапсулированных микроорганизмов исследовали с помощью флуоресцентной микроскопии, структурные особенности полученных биоконструктов – сканирующей электронной микроскопии. Лучшая выживаемость целых клеток наблюдалась для дрожжей *O. polymorpha* ВКМ У-2559, а клетки водорослей *C. reinhardtii* не выдерживали инкапсулирования. Показано, что матрица покрывает живые клетки плотным слоем и не имеет отдельных частиц золя неорганической части, что может быть связано с большим избытком органической части (ПЭГ) к неорганической части (TiO_2) в матрице, полученной в условиях золь-гель синтеза из полиэтиленгликолята титата.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта ректора ТулГУ для обучающихся по образовательным программам высшего образования – программам магистратуры, № БТ/23/02/ГРР_М от 12 декабря 2023 года.

ТЕРМИНАЛЬНЫЕ СОСТОЯНИЯ И ПОСТРЕАНИМАЦИОННАЯ БОЛЕЗНЬ В АКУШЕРСКО-ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

П. С. Фролова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
polinafrolina@yandex.ru

Введение. Материнская смертность – остроящая проблема акушерства и гинекологии. Несмотря на возможности современной медицины, по данным Всемирной Организации Здравоохранения в 2020 г. почти 287 000 женщин умерли во время и после беременности и родов. По данным мониторинга, проводимого Минздравом России и основанного на анализе пояснительных записок главных акушеров-гинекологов субъектов Российской Федерации к отраслевому годовому отчету по форме № 32 «Сведения о медицинской помощи беременным, роженицам и родильницам» и учетных форм № 003/у-МС «Карта донесения о случаях материнской смерти», утвержденных приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 июня 2006 г. № 500, в 2019 г. выявлено 145 случаев материнской смерти в Российской Федерации (в 2018 г. – 161 случай).

Цель исследования. Выявить основные причины, следствием которых является возникновение терминального состояния в акушерско-гинекологической практике; определить факторы, влияющие на возникновение и течение постреанимационной болезни в акушерско-гинекологической практике; рассмотреть физиологические, биохимические проявления, механизмы развития, особенности протекания различных терминальных состояний, в зависимости от гинекологической патологии; провести анализ статистических данных.

Материалы и методы. Теоретический анализ научной литературы по выбранной теме и синтез, статистическое наблюдение, выборка, сводка и группировка материалов статистического наблюдения.

Результаты. В результате работы со статистическими данными, были получены следующие данные: в акушерско-гинекологической практике терминальные состояния как правило обусловлены – массивной кровопотерей, преэклампсией, перитонитом, сепсисом, эмболией околоплодными водами, тромбозом эмболией.

Выводы. В результате проведенной работы были выявлены основные причины, следствием которых является развитие терминальных состояний в акушерско-гинекологической практике; определены факторы, влияющие на возникновение и течение постреанимационной болезни в акушерско-гинекологической практике; рассмотрены физиологические, биохимические проявления, механизмы развития, особенности протекания различных терминальных состояний, в зависимости от гинекологической патологии; проведен анализ статистических данных, посредством статистического наблюдения, выборки, сводки и группировки материалов статистического наблюдения.

РОЛЬ МЕЛАНИНА В СТРЕССОВОМ ОТВЕТЕ ЛИШАЙНИКА *LOBARIA PULMONARIA* (L.) HOFFM. НА ВОЗДЕЙСТВИЕ УФ-В ИЗЛУЧЕНИЯ
***А. Ф. Хайруллина*^{1,2}, *В. Р. Хабибрахманова*^{1,2}, *Ф. В. Минибаева*¹**

¹Казанский институт биохимии и биофизики РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31;
aj5ylu@yandex.ru

²Казанский национальный исследовательский технологический университет, 420015, Казань,
ул. Карла Маркса, 68

Лишайники известны своей симбиотической природой и способностью произрастать на разнообразных субстратах. Они обладают высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам среды: засухе, высоким температурам, интенсивной солнечной радиации и др. Важную роль в поддержании гомеостаза лишайников играют различные метаболиты. По современным данным, защиту лишайников от воздействия стрессовых факторов обеспечивают экранирующие пигменты – меланины. Изучение данных пигментов позволит раскрыть их роль в высокой стрессовой устойчивости лишайников, в том числе установить механизмы защитного действия меланина при воздействии повреждающих УФ лучей.

В связи с этим, целью данной работы являлось исследование роли меланина в стрессовом ответе лишайника *Lobaria pulmonaria* на воздействие УФ-В излучения. На опытные группы талломов лишайника было оказано стрессовое воздействие: УФ-В облучение по 80 мин в течение 14 дней в специальной установке. Для оценки изменений в количественном содержании меланина в лишайнике в ответ на УФ-В облучение, было проведено выделение пигмента и определение его выхода. Для понимания механизмов защитного действия меланина в условиях *in vivo* нами было проведено исследование физико-химических, супрамолекулярных и антиоксидантных свойств меланинов, выделенных из лишайника *L. pulmonaria*.

Установлено, что в ответ на УФ-В облучение в лишайнике *L. pulmonaria* увеличивается содержание меланина в 1,6 раза. Определено, что УФ-В индуцированное стрессом накопление меланина в верхнем коровом слое таллома лишайника повышает его способность в 1,6 раза поглощать и удерживать воду. Установлено, что в *L. pulmonaria* УФ-индуцированный меланин и меланин, синтезированный в результате естественной меланизации, сопоставимы по физико-химическим свойствам, но отличаются по структурной организации и антиоксидантным свойствам.

Таким образом, УФ-В излучение лишайника *L. pulmonaria* вызывает биосинтез меланина, который участвует в адаптации лишайника к стрессовым факторам. Полученные новые знания могут быть направлены на решение важных фундаментальных и прикладных задач в области стрессовой биологии.

СОЗДАНИЕ ВЕКТОРА ДЛЯ ЦЕЛЕВОЙ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ В ГЕНОМЕ *BACILLUS PUMILUS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR/CAS9

Д. И. Хасанов, Н. Л. Рудакова, Ю. В. Данилова, Ю. А. Васильева, А. И. Гильмутдинова, Е. Э. Ласточкина, Е. С. Волкова, М. Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; hasda2149@gmail.com

Металлопротеиназа *B. pumilus* 3-19, обнаруженная учеными Казанского федерального университета, представляет собой первый бактериальный фермент-гомолог эукариотических металлопротеиназ семейства астацинов и адамализинов среди внеклеточных протеиназ бацилл и не имеет гомологов среди других протеолитических ферментов прокариот. Структура активного центра металлопротеиназы *B. pumilus* высококонсервативна и сочетает в себе признаки астацинов и адамализинов эукариот. Мы предполагаем, что металлопротеиназа *B. pumilus* эволюционно является предковой формой для белков семейств адамализинов и астацинов, что формирует научный интерес к изучению функциональной роли исследуемого фермента у прокариот, а также к поиску потенциальных областей его применения.

Для изучения функций металлопротеиназы *B. pumilus* в бактериальной клетке необходимо исследовать, как инактивация гена фермента скажется на физиологических характеристиках полученного делеционного мутанта. Анализ полученных данных в сравнении с нативным штаммом с активным геном металлопротеиназы позволит установить функции фермента в клетках бацилл.

Целью настоящего исследования явилось создание плазмидного вектора для целевой инактивации гена металлопротеиназы *B. pumilus* 3-19 (*mpgVp*) с помощью технологии CRISPR/Cas9.

В настоящей работе был использован CRISPR/Cas9 вектор pJOE9282.1. Для работы системы редактирования генома CRISPR/Cas9 на данной плазмиде предусмотрены два сайта рестрикции для вставки направляющей последовательности (sgRNA) и фланкирующих участков гена-мишени для гомологичной рекомбинации. Для вставки последовательности sgRNA, направляющей эднуклеазу cas9 к гену-мишени, вектор pJOE9282.1 предварительно расщепляли по сайту рестрикции BsaI. Последовательность sgRNA получили путем отжига двух праймеров и затем лигировали с рестрицированным вектором. Фланкирующие последовательности гена *mpgVp* были получены с геномной ДНК *B. pumilus* 3-19 методом ПЦР, после чего встроены по сайту SfiI в вектор pJOE9282.1, несущий последовательность sgRNA гена *mpgVp*. Наличие соответствующих вставок на каждом этапе сборки плазмидного вектора подтверждали методом ПЦР-анализа и секвенированием.

В результате проделанной работы был получен вектор rKDm06.23, который будет использован для трансформации в клетки *B. pumilus* 3-19 с целью получения делеционного мутанта с инактивированным геном внеклеточной адамализиноподобной металлопротеиназы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ и Кабинета Министров Республики Татарстан в рамках научного проекта № 23-24-10059.

CHEMICAL COMPOSITION OF EXTRACTS OBTAINED FROM *YUNIPERUS COMMUNIS* L. DISTRIBUTED IN AZERBIJAN

A. B. Hasanova, K. T. Alieva

Institute of bioresources of the Ministry of science and education of the Republic of Azerbaijan,
Ganja, Azerbaijan, AZ2000, av. H. Aliyeva, 419;
ayshe_hesenova@rambler.ru

Currently, the western region of Azerbaijan is increasingly attracting the attention of scientists, since the flora of this territory has unique characteristics in terms of plant species that are used to obtain valuable products for food and medicine fields. The wide distribution of the common juniper (*Juniperus communis* L., *Cupressaceae*) in the region allows to conduct research on its bioactive compounds. The plant material (450 g) was collected from Dashkasan district (41°05'36" N - 45°21'58" E) in the first week of every month from April to December 2023. All chemicals and solvents used in this study were purchased from Sigma Aldrich (St. Louis, MO). The branches with leaves (250 g) collected monthly were crushed to 2-3 mm with a laboratory mill (SM-450L, MRCLab, Israel). Ethanol extracts were obtained according to the standard method at 45-50°C for 6-7 hours in a Soxhlet extractor unit consisting of counter-cooling.

The qualitative composition of the ethanol extracts was determined by the gas chromatography (GC) method in an AutoSystem XL (Perkin Elmer, Canada) flame ionization detector chromatograph. A 100 m long thin quartz capillary column (diameter 250 μm x 0.5 μm) is evaporated at a temperature of 250°C. The analysis and percentage of the individual components in the samples were calculated according to the next State Standards. As a result of the research, monoterpenes and sesquiterpenes were found in ethanolic extracts by GC analysis. In all samples, monoterpene hydrocarbons always predominated with percentages higher than 70% (from 71.12% for the plant material collected in August to 74.38% for those in September), followed in similar quantities by oxygenated monoterpenes or sesquiterpene hydrocarbons with values between 10.45% and 12.77% and between 10.50% and 12.72%, respectively. Oxygenated sesquiterpenes were present in all harvest months in small quantities, with a maximum of 4.49% in August. α -pinene was the most abundant hydrocarbon monoterpene (30.65%-33.90%) together with β -pinene (10.01%-11.78%), β -myrcene (8.00%-9.95%) and 3-phellandrene (4.65%-5.56%), while among the oxygenated monoterpenes, α -terpineol prevailed (3.00%-3.98%). The main sesquiterpene hydrocarbons were α - (2.12%-2.65%) and γ -cadinene (1.97%-2.56%). Bornyl acetate characterized the fraction of oxygenated sesquiterpenes (3.12%-3.65%). The ethanol extract of the plant can be used as a potential natural source for cosmetic and drug industry.

ДИНАМИКА ВЯЗКОСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МЕМБРАН КЛЕТОК РАКА ШЕЙКИ МАТКИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ФДТ С ФОТОДИТАЗИНОМ

А. Э. Хлынова¹, Л. Е. Шимолина¹, А. М. Можеров¹, М. К. Куимова², М. В. Ширманова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

sashahlynova@list.ru

²Имперский колледж Лондона, SW7 2AZ, Лондон, Великобритания, Принс-Консорт-роуд

Несмотря на фундаментальное значение вязкости мембраны клетки, ее роль в патогенезе заболеваний, в частности онкологии, и ответе на терапию (химиотерапию, фотодинамическую терапию (ФДТ)) изучена не полностью. Недавние исследования указывают на вовлеченность микровязкости мембран в ответ на противоопухолевое лечение, что может быть полезным для разработки новых или совершенствования уже существующих протоколов лечения. Одним из эффективных методов измерения мембранной вязкости является использование флуоресцентной микроскопии с временным разрешением (FLIM) в сочетании с чувствительными к вязкости флуоресцентными молекулярными роторами. Исследования микровязкости мембран в основном сосредоточены на модельных мембранах и в условиях *in vitro*, в то время как на более сложноорганизованных моделях эксперименты не проводились.

Целью работы было изучение динамических изменений микровязкости мембран опухолевых клеток при ФДТ с помощью FLIM микроскопии и флуоресцентного ротора BODIPY2.

Для достижения цели в работе была использована клеточная линия Hela Kyoto (рак шейки матки человека), 3D сфероиды, мыши линии Nude с привитыми опухолями. ФДТ проводилась с использованием клинически одобренного фотосенсибилизатора Фотодитазин (ФЗ) в дозе 10 мкМ для клеток и сфероидов, для мышей – 5 мг/кг, в/в. 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 исследовании вязкостных изменений мембран клеточного монослоя было показано, что значения вязкости контрольных клеток, клеток, инкубированных с фотодитазинем и подвергшихся облучению, была одинаковой ~350сП. Отмечено, что спустя 1-6 ч после ФДТ наблюдалось значительное снижение микровязкости до 150сП.

В 3D клеточных сфероидах вязкость всех контрольных образцов клеток также была одинаковой и равна ~330сП. Спустя 3 ч и в течение 24 ч после воздействия наблюдалась тенденция к снижению вязкости до 178сП, что согласуется с результатом для клеточного монослоя. Однако спустя 48 ч значения вязкости увеличились (225±45 сП).

В эксперименте на мышах с опухолями *in vivo* было показано, что непосредственно после ФДТ наблюдалось статистически значимое повышение вязкости – 401±26 сП vs 252±35 сП, а спустя неделю значения вязкости в опухолевых клетках были сравнимы с контрольными (317±46 сП).

Таким образом, в ходе работы оценены изменения вязкости мембран клеточного монослоя, 3D опухолевых сфероидов и клеток опухолей *in vivo* при ФДТ с использованием фотодитазина. Полученные результаты могут быть полезны для оценки эффективности ответа опухолевой клетки на терапию.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 20-14-00111).

ОЦЕНКА ПОВЕДЕНИЯ И УСПЕШНОСТИ РЕАККЛИМАТИЗАЦИИ ЛЕСНОГО СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ (*RANGIFER TARANDUS FENNICUS LONNB.*) В КЕРЖЕНСКОМ ЗАПОВЕДНИКЕ ЗА ОТДЕЛЬНО ВЗЯТЫЙ ПЕРИОД (С 3 ПО 23 ОКТЯБРЯ, 2022 ГОД)

К. С. Хомутинников

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kirillhomutinnikof@yandex.ru

Исследование выполнено в условиях Керженского заповедника, на территории которого проводится работа по реакклиматизации лесного подвида Северного оленя (*Rangifer tarandus fennicus* l.). Северный олень является символом Нижегородской области, но при этом здесь он перестал существовать чуть больше века назад (примерно в 1920ых). В первую очередь это связывают с перепромыслом. Задачей данной работы было оценить поведение северного оленя в Керженском заповеднике и оценить успешность осуществления его реакклиматизации за отдельно взятый период времени.

Основным методом, примененным в данной работе, был метод фотоловушек. Использовались ловушки марки Browning 4K Edge. Основные характеристики: дальность срабатывания – 24 метра, дальность ИК подсветки – 30 метров, угол обзора – 55, максимальный размер фотографии 32 Мп, есть запись звука. На территории заповедника была установлена кормушка, огражденная забором с воротами. Перед воротами на дереве смонтирована упомянутая выше фотоловушка на высоте 1 метр. Девайс обладает способностью регистрировать 30 секунд при вхождении движущегося объекта в поле зрения. Также ловушка способна к дневной и ночной съемке. После установки карты памяти в фотоловушку ее оставляют на 4-10 суток. Дальше извлекают карту памяти, а данные с видеозаписей обрабатываются и записываются в таблицу MS Office Excel.

Итого было обработано около 500 видеозаписей объемом 30 секунд, общее время видеоматериала составило 250 минут. Результатом данной работы стала электронная таблица, в которой отображены данные по 11 оленям (6 самцов и 5 самок). Учеты по количеству посещения кормушки оленями, позволили установить, что самцы посещают кормушку чаще, чем самки. Среднее число посещений кормушки за 20 дней у самцов составило 14,2, у самок 8,6 соответственно. Среднее количество посещения в день показывает ту же тенденцию: 0,71 у самцов и 0,42 у самок. Также были выведены данные по времени, проведенному на кормушке. Самки находились в пространстве кормушки в среднем 21 минуту 9 секунд, когда самцы проводили там в среднем 11 минут 51 секунду. Необходимо отметить, что среди оленей были 1 самец, который ни разу не посетил кормушку за данное время, и 1 самец и 2 самки, которые посетили кормушку всего 4 раза.

Обобщая полученные результаты относительно поведения северного оленя в условиях подкармливания, можно сделать вывод, что самцы посещают кормушку достоверно чаще, но не находятся там продолжительное время. С самками ситуация обратная. У самцов этот факт можно связать с более активным поведением и с более быстрым принятием пищи, из-за чего они чаще приходят на кормушку. У самок это может быть объяснено меньшей кормовой активностью и менее быстрым принятием пищи, что – в свою очередь – вероятно, обусловлено иным гормональным фоном.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭНХАНСЕРА ГЕНА TBR1 В РАЗВИТИИ МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА

Н. С. Хорева¹, Х. К. Целис Суэскун¹, А. О. Кустова¹, В. С. Тарабыкин²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nn.serg@rambler.ru

²Институт клеточной биологии и нейробиологии Университетского медицинского комплекса Шарите, 10117, Берлин, Германия, ул. Шаритеплац, 1

Основным эволюционным новшеством в развитии мозга млекопитающих стало появление мозолистого тела. Мозолистое тело представляет собой самую крупную комиссуру головного мозга и встречается исключительно у плацентарных млекопитающих. Особенностью неокортекса у сумчатых и однопроходных млекопитающих, напротив, является отсутствие мозолистого тела. У них главной формой межполушарного взаимодействия является увеличенная передняя комиссура.

Вероятно, образование новой структуры связано с изменением миграции аксонов неокортекса во время развития. Это могло регулироваться изменениями уровня экспрессии определенных генов, ответственных за контроль над процессами роста аксонов и миграцией клеток в неокортексе, значительное влияние на которые оказывают энхансеры. Целью исследования явилось изучение влияния эволюционно нового энхансера гена *Tbr1* на миграцию нейронов неокортекса.

Был проведен поиск энхансеров белок-кодирующих генов. Сравнивали уровни ацетилирования гистона H3 на лизине 27 (H3K27ac), рассматриваемого как эпигенетическая метка для активных энхансеров, по геному домового опоссума и домовой мыши. Идентифицировали энхансер *Tbr1* (T-box brain gene 1), паттерн экспрессии которого различается в мозге плацентарных и неплацентарных млекопитающих.

Для делеции энхансера гена *Tbr1* в развивающихся клетках неокортекса была использована система CRISPR/Cas9 с применением метода *in utero* электропорации на эмбрионах мышей линии С3Н на стадии E14. Оценка влияния делеции на развитие мозолистого тела была проведена методом иммуногистохимии. На первом этапе срезы мозга толщиной 50 мкм помещали в блокирующий раствор с добавлением специфических первичных антител против GFP (1:1000) и *Tbr1* (1:1000). Инкубировали срезы в течение 12 часов при 40С. По окончании инкубации срезы промывали в PBS в течение 5 минут 3 раза. Далее образцы перекладывали в раствор со вторичными антителами, конъюгированными с флуоресцентными красителями Alexa488, Cy5 и DAPI для контрастирования ядер клеток. Инкубировали в течение 4 часов. Полученные окрашенные срезы помещали на стекла и анализировали методом конфокальной микроскопии.

В результате после делеции энхансера *Tbr1* были выявлены нарушения миграции нейронов: из GFP+ нейронов 35% находились в верхнем слое коры в контрольной группе и 20% в экспериментальной; в нижнем слое – 17% в контрольной группе и 40% в экспериментальной. Также было обнаружено снижение уровня экспрессии: из GFP+ нейронов в верхних слоях 96% экспрессируют *Tbr1* в контрольной группе и только 30% в экспериментальной. На направление роста аксонов делеция энхансера не повлияла. В дальнейшем планируется изучение морфологии мозолистого тела и оценка плотности аксонов вблизи срединной линии по сравнению с контрольной группой.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FSWR-2023-0029).

ВОЗМОЖНОСТИ ТОМОГРАФИЧЕСКИХ ЛУЧЕВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ ФОРМЫ ПАРАЗИТАРНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ НА ПРИМЕРЕ ЭХИНОКОККА

И. А. Храмушина¹, М. Б. Сухова^{1,2}, М. В. Аболенская², Е. А. Рузанова², Ю. Ю. Маркина¹, С. В. Костюнина¹, Е. В. Лобанова³, Н. Н. Пасечник⁴

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

ira.hramushina@yandex.com

²НИИ ГБУЗ НО «СККБ им. акад. Б.А. Королёва», 603950, Нижний Новгород, ул. Ванеева, 209

³Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

⁴ФГКУ «422 Военный госпиталь» МО РФ, 603105, Нижний Новгород, ул. Ижорская, 25

Диагностическая значимость методов лучевой медицинской визуализации паразитарных заболеваний ежегодно возрастает, а в случае эхинококкоза (паразитарного заболевания человека, вызванными ленточными червями вида *Echinococcus*) МРТ и рентгеновская КТ могут стать первыми и основным методами для выявления и постановки диагноза, качественно влияя на тактику и прогноз лечения.

Цель. Описать клинический случай сочетанной эхинококковой инвазии печени, сердца и лёгких, показать возможности распознавания диссеминированной формы эхинококкоза методами компьютерной и магнитно-резонансной томографии.

Материалы и методы. Пациент Б., 68 лет, пенсионер, обратился в поликлинику по месту жительства по поводу впервые возникших кардиологических жалоб на фоне длительного (1,5 недели) субфебрилитета ($37,4 \pm 1,5^\circ\text{C}$), где по данным ЭХО-КС выявлен экссудативный перикардит с признаками сдавления камер сердца. Пациент переведен в областную клинику кардиохирургического профиля для пункции полости перикарда, дообследования и определения дальнейшей тактики лечения. Инструментальная диагностика последовательно включала динамическое ЭХО-КС, КТ и МРТ, расширенный лабораторный анализ крови и биологических жидкостей. Пациенту выполнено дренирование полости перикарда, эвакуировано ~500 мл жидкостного содержимого, установлен дренаж в полость перикарда, по которому в течение 3-х дней получено еще около 300-400мл жидкостного отделяемого.

Результат. По результатам комплексного КТ исследования с контрастным усилением выявлены изменения правого легкого (пристеночное подкапсульное кистовидное образование и локальное расширение косой междолевой щели), печени (многокамерное кистовидное образование печени больших размеров, интимно прилежащее к диафрагме), сердца (асимметричный выпот в перикарде на фоне утолщения листков перикарда ($s > d$)). Был заподозрен паразитарный генез заболевания печени, частично нашедший свое подтверждение по данным лабораторных исследований (высокие титры IgG (6,3 ед.)), но полиорганность выявленных патологических изменений не давала единого представления о заболевании.

Поэтому следующим, уточняющим, шагом диагностики стал метод МРТ с использованием нового направления – метода картирования. Метод картирования, это новое физическое МР диагностики направление, основанное на измерении времени релаксации тканей, позволяя провести высокоспециализированную детализацию на качественно ином уровне, в том числе и без контрастного усиления. В нашем случае именно эта МР-методика позволила с большей уверенностью подтвердить идентичность образований легких, перикарда, печени, определив диссеминированную форму эхинококкоза с поражением сердца, что качественно изменило тактику лечения пациента, позволив надеяться на благоприятный прогноз тяжелого мультисистемного паразитарного поражения.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ НАД(Ф)Н ЛИМФОЦИТОВ В ЛИМФОУЗЛАХ МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ ГЛИОМЫ

А. Р. Хузина¹, Т. С. Редькин¹, Е. Е. Слепцова¹, М. О. Савюк^{1, 2}, М. В. Ширманова³, Д. В. Южакова³, В. Д. Турубанова¹, Д. В. Крысько²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
huzinaar02@yandex.ru

²Лаборатория исследования и терапии гибели клеток Гентского университета, Гент, Бельгия

³Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Диффузная глиома – это наиболее агрессивная злокачественная опухоль головного мозга с высокой частотой рецидивов и низкой выживаемостью пациентов. Традиционные подходы к лечению дают ограниченный успех с рецидивированием через 6–8 месяцев и медианой общей выживаемости 15–17 месяцев. Иммунотерапия открывает новые возможности для лечения глиом. Противоопухолевая дендритноклеточная вакцинация на основе иммуногенно-убитых с помощью фотоиндукции лизатов опухолевых клеток может вызывать активацию адаптивного звена иммунитета.

Целью данной работы является оценка активации лимфоцитарного звена при терапевтической противоопухолевой дендритноклеточной вакцинации в ортотопической модели мышинной глиомы с целью подтверждения активации адаптивного противоопухолевого иммунитета.

Для этого был осуществлен FLIM-имиджинг НАД(Ф)Н лимфоцитов изолированных подмышечных лимфоузлов. Были установлены значения времени жизни короткой и длинной компонент жизни флуоресценции t_1 и t_2 , а также их относительных вкладов α_1 и α_2 и среднего времени жизни t_m НАД(Ф)Н в клетках.

Предварительные результаты исследования показали, что терапевтический курс дендритноклеточной вакцинации на основе фотоиндуцированных клеток глиомы приводит к увеличению на 10% относительного вклада короткой компоненты времени жизни флуоресценции в экспериментальной группе DC + pz IV по сравнению с контролем не стимулированных дендритных клеток (DC + PBS). Это говорит о сдвиге клеточного метаболизма в сторону гликолиза, и, как следствие, активации лимфоцитарного звена. В группе отрицательного контроля (DC + F/T) тоже отмечается увеличение относительного вклада короткой компоненты времени жизни флуоресценции по сравнению с контролем до на 10%. Группа DC + F/T была использована, как негативный контроль, так как некроз, к которому приводят последовательные циклы замораживания и оттаивания, не является иммуногенным. Тем не менее, терапевтические аутологичные дендритноклеточные вакцины на основе клеток, убитых таким способом, применяются в терапии рака и в частных случаях показывают эффективность. Полученные нами результаты подтверждают гипотезу активации лимфоцитарного звена адаптивного иммунного ответа при дендритноклеточной вакцинации, однако планируется расширение выборки для полноценной оценки вклада вакцинации в активацию адаптивного противоопухолевого иммунитета.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00716.

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ БЕЛКОВ НА МОНОСЛОЙНЫХ КУЛЬТУРАХ ПЕРВИЧНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ И КЕРАТИНОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Л. А. Хусаинова, Л. М. Яныгина, Р. Р. Норкин, А. А. Вовченко, А. А. Ризванов, А. С. Пономарев

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
l.ponomarev2013@gmail.com

Ламеллярный ихтиоз является тяжело протекающим хроническим дерматозом, который проявляется как нарушение эпидермального барьера, приводящим к гиперкератозу, шелушению кожи и воспалению, возникшему вследствие дефицита фермента TGM1, обусловленного мутацией гена TGM1. Осложнения ихтиоза могут затруднять физическое развитие и рост ребенка ввиду нарушения теплообмена в раннем детстве. Кроме того, возрастает риск кожных суперинфекций и трансэпидермальной потери воды, что может привести к сепсису и смерти. Разработка терапии, основанная на генетической модификации с помощью, направленной на коррекцию гена TGM1, предоставляет возможность восстановить уровень дефицитного фермента.

При разработке генной терапии важным является проведение оценка экспрессии маркеров, характерных для клеток кожи человека: CK5, CK10, CK14, (цитокератины 5, 10, 14) TGM1 (транслугтаминаза 1), FLG (филлагрин), DSG3, p63. В данном исследовании это было проделано на примере клеточных культуры кератиноцитов (HaCaT) и фибробластов человека с помощью иммуноцитохимического анализа. Иммуноцитохимия проводилась на монослойных культурах и оценивалась с помощью конфокального сканирующего микроскопа LSM 780 (Carl Zeiss, германия). В полученных изображениях замерялось среднее значение флуоресценции. Интенсивность флуоресценции во всех замерах была значимо выше, при $p < 0.0001$ определенного тестом Стьюдента. Результаты денситометрии после иммуноцитохимического окрашивания демонстрируют что экспрессия белка CK5 в фибробластах выше на 49,2% чем в группе кератиноцитов, при этом экспрессия белков CK14, p63, FLG, TGM1, DSG3 выше в группе кератиноцитов на 41,8%, 76,8%, 47,5%, 52,7%, 8% соответственно.

Таким образом, продемонстрировано, что клеточная линия кератиноцитов HaCaT и первичные фибробласты человека экспрессируют маркеры CK5 CK14, P63, FLG, TGM1, DSG3, что соответствует данным, описанным в литературе. При этом большинство из изученных маркеров экспрессируются значительно выше в кератиноцитах человека.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. ПРОЕКТ № FZSM-2023-0011.

АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИИ И АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА НА ФОНЕ МОДЕЛИРОВАННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Т. И. Царева, И. И. Ионова, Д. А. Данилова, А. В. Дерюгина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ira_18_01@mail.ru

Среди сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) особое место занимает хроническая сердечная недостаточность (ХСН), которая развивается в результате различных заболеваний сердечно-сосудистой системы, приводящих к снижению сократительной функции миокарда, хронической гиперактивации нейрогормональных систем, которые проявляются одышкой, сердцебиением и ограничением физической активности. Несмотря на значительные достижения в лечении ССЗ, распространенность ХСН продолжает неуклонно расти. Особый интерес в терапии заболевания представляет использование молекулярного водорода (H_2), который эффективен почти при всех патогенных состояниях, связанных с окислительным стрессом и воспалением. Цель работы – анализ R-R интервалов и артериального давления у крыс при действии молекулярного водорода на фоне моделированной хронической сердечной недостаточности.

Исследование проводилось на ($n = 15$) белых крысах самцах линии Wistar массой 200-300 г. Моделирование ХСН производилось 3-кратным, через 48 часов, внутрибрюшинном введением адреналина гидрохлорида 0,3 мг/кг массы тела. Крысы были разделены на 3 группы: 1-я группа исследования ($n = 5$) через 1 сутки после последнего введения адреналина получала ингаляции 2% газо-водородной смесью в течение 40 минут многократно; 2-я группа исследования ($n = 5$) получала ингаляции 40 минут однократно; 3-я группа (контроль) не получала ингаляции после моделирования ХСН. Уровень физиологической нормы определяли у интактных животных. Регистрация ЭКГ и измерение АД производилась до и после моделирования ХСН, а также на 1, 3, 7 сутки воздействия H_2 и на 14 сутки после прекращения воздействия водорода. Регистрацию ЭКГ проводили при помощи беспроводной системы «Физиобелт 2.0.0». Измерение АД проводилось с помощью прибора «Систола».

В результате исследования ЭКГ и АД после моделирования ХСН наблюдалось значительное повышение АД относительно показателей интактных животных, что сопровождалось ростом показателя R-Rmin при анализе электрокардиографии. При однократном использовании H_2 показатели систолического и диастолического давления в группе на 14 сутки снижались относительно контрольной группы. Показатели R-Rmin уменьшались с 1 суток регистрации относительно значений, полученных при моделировании ХСН. Показатели R-Rmax увеличивались на 1-3 сутки после действия H_2 как в группе с однократным его использованием, так и при многократном воздействии. Изменение R-Rmin и R-Rmax свидетельствует о снижении активности симпатической нервной системы и росте парасимпатического влияния.

Таким образом, использование H_2 при моделировании ХСН, по всей видимости, приводило к восстановлению сердечной функции, способствуя улучшению микроциркуляции и транспорту кислорода. Полученные результаты свидетельствуют, что применение H_2 может быть эффективным в терапии ХСН.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ СЕГМЕНТАЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ НА LGE-MRI В РАМКАХ СОЗДАНИЯ СИСТЕМЫ КОРРЕКТИРОВКИ АБЛЯЦИИ

В. А. Цветая¹, М. М. Слотвицкий¹, Д. А. Паршин², А. С. Селиванов¹, А. Г. Демин², А. И. Калинин¹, В. А. Сыровнев³, В. С. Кириллова⁴, А. А. Аитова¹, К. И. Агладзе¹

¹Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1А;
berezhnoi.ak@phystech.edu

²Университет ИТМО, Санкт-Петербург, просп. Кронверский, 49

³ФГБУ «Клиническая больница № 1» (Волынская) Управления делами Президента РФ,
121352, Москва, ул. Староволынская, 10

⁴НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина Минздрава России, 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская,
15

Согласно исследованиям Всемирной Организации, сердечно-сосудистые заболевания являются наиболее распространенной причиной смертности среди трудоспособного населения развитых стран. Высоко распространены фибрилляции предсердий (ФП), это заболевание поражает до 2% взрослого населения развитых стран. Прогнозирование и оценка риска возникновения аритмий (волн-реентри) является актуальной задачей для современного здравоохранения.

Основным методом лечения ФП является абляция – создание искусственных препятствий на поверхности ткани, призванных остановить возникновение и развитие спиральных волн. Однако процент рецидивов при проведении таких операций крайне высок: более 50% пациентов возвращаются на повторную операцию. Цель работы – разработка инструмента автоматической сегментации предсердий на МРТ снимках в рамках создания пациент-специфичной модели сердечной ткани предсердий человека. Это необходимо для воссоздания формы предсердий пациента и неоднородностей в их ткани, способных служить субстратами (инициаторами) аритмий. С использованием полученной модели можно проводить симуляции волновой динамики в ткани и, в результате, предсказывать оптимальный протокол операции для выбранного пациента.

В рамках исследования были вручную размечены МРТ-изображения из открытых источников и полученные благодаря партнерству с лечебными учреждениями. С использованием этих данных была обучена нейронная сеть для сегментации стенок предсердий, внутреннего пространства предсердий и фиброза в ткани. Продолжается набор данных и доработка архитектуры нейронной сети, наибольшего внимания требует алгоритм сегментации фиброза в ткани, что связано с очень малыми размерами таких зон на снимке.

В основу модели легли электрофизиологическая модель Contermanche и морфологическая модель Поттса. Первая показала себя как хорошо описывающая электрофизиологию предсердных кардиомиоцитов для описания аритмогенных процессов в ткани. В основе имитации предсердий электрофизиологически лежит численное решение системы уравнений типа Ходжкина-Хаксли. Вторая модель Поттса является моделью адгезии кардиомиоцитов на поверхность, отражает формирование монослоя человеческих сердечных клеток и по сути структурно полностью характеризует предсердия.

На основе указанных моделей создана единая компьютерная модель сердечной ткани с электрофизиологией, отвечающей параметрам предсердной ткани человека, по принципу создания DigitalTwins. В дальнейшем будет проведена работа по интеграции в модель МРТ данных, цельная система моделирования волновой динамики в ткани предсердий с учетом индивидуальных особенностей пациента станет доступной к использованию.

РОЛЬ ГЕНОВ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ГЕНОВ АВС-ТРАНСПОРТЕРОВ В НАЗНАЧЕНИИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА IV СТАДИИ

И. А. Цыденова^{1,2,3}, В. А. Маркович¹, Д. С. Долгашева^{1,2}, Е. А. Кравцова^{1,2}, М. К. Ибрагимова^{1,2,3}, К. А. Гантулбарова^{1,2}, М. М. Цыганов^{1,3}, Н. В. Литвяков^{1,2,3}

¹Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, 634050, Томск, ул. Набережная Реки Ушайки, 10;
tsydenova422@gmail.com

²Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36

³Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, 634050, Томск, Московский тракт, 2

Цель исследования: оценка эффективности персонализированного назначения химиотерапии на основе анализа экспрессии генов семейства АВС-транспортеров и генов химиочувствительности больных раком желудка IV стадии с перитонеальным канцероматозом.

Материалы и методы. В контрольную группу (n = 35) были включены больные, которым выполнялась циторедуктивная операция с последующей стандартной послеоперационной химиотерапией по схеме FOLFOX. В основную группу было проспективно включено 35 пациентов, которым выполнялась циторедуктивная операция, затем проводилась персонифицированная системная по схемам: FOLFIRI, TPFL, XELIRI, PC и GemCap и интраперитонеальная химиотерапия. Для исследования был использован операционный материал (опухолевая ткань желудка, неизменная ткань желудка, канцероматоз, материал метастаза в лимфатический узел). РНК выделяли с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany). Уровень экспрессии генов АВС-транспортеров: ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2 и генов химиочувствительности: BRCA1, RRM1, ERCC1, TOP1, TOP2a, TUBB3, TYMS, GSTP1 оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Australia). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0».

Результаты. Среди генов АВС-транспортеров только ген ABCC1 показал статистически значимую разницу в уровне экспрессии между исследуемыми сайтами по каждому пациенту. Среди генов химиочувствительности гиперэкспрессия в этих тканях была характерна только для TOP2a. В основной группе медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) составила 15,8 мес., в группе контроля – 11,2 мес. Медиана общей выживаемости (ОВ) в основной группе составила 18,7 мес., в контрольной группе – 12,7 мес. В основной группе удалось достичь 1-летней выживаемости у 35 (100%), 2-летней – у 9 (27%), 3-летней – у 1 (3%) пациента.

Заключение. Разработанный метод лечения на основе анализа уровня экспрессии генов химиочувствительности и АВС-транспортеров позволяет улучшить отдаленные результаты комбинированного лечения в виде значимого увеличения медианы ВБП и ОВ.

МИКРОБИОРЕМЕДИАЦИЯ ВОД, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

А. С. Чердакова, С. А. Егоров, С. В. Гальченко

Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, 390000, Рязань, ул. Свободы, 46;

cerdakova@yandex.ru

Нефтепродукты являются одними из наиболее опасных и распространенных загрязнителей природных вод. Среди способов очистки, загрязненных ими вод, наиболее экологически безопасными выступают биологические методы, основанные на естественной биодеструкции загрязнителей при использовании нефтеокисляющей микрофлоры. Учитывая масштабы загрязнения водных сред нефтепродуктами возникает необходимость научного поиска способов стимуляции процессов их биоремедиации. По нашему мнению, в данном аспекте, весьма перспективно применять гуминовые вещества и препараты на их основе.

Целью исследований являлось экспериментальное изучение влияния гуминовых препаратов на процессы микробиологической ремедиации вод, загрязненных различными нефтепродуктами.

Объектом исследования служили промышленные гуминовые препараты (ГП), полученные из различного сырья: «Экорост» (торф) и «Гуми» (бурый уголь). Предметом исследования являлись нефтепродукты различных фракций, наиболее распространенные загрязнители водных сред – дизельное топливо и мазут. Основу исследования составляли лабораторные эксперименты, в которых были смоделированы процессы микробиоремедиации вод, загрязненных указанными нефтепродуктами в концентрации 10 г/л и 20 г/л. В качестве источника нефтеокисляющей микрофлоры применяли биопрепарат «Дестройл» (культура штамма *Acinetobacter species* JN-2). В искусственно загрязненную нефтепродуктами воду вносили данный биоремедиатор и ГП (в виде 0,01% водных растворов). Контролем выступали образцы без внесения ГП. Экспозиция эксперимента осуществлялась в течении трех месяцев. Критерием оценки выступала концентрация нефтепродуктов в воде на конец эксперимента, которая определялась методом ИК-спектрометрии.

Степень биоутилизации нефтяных углеводородов на вариантах с дизельным топливом составляла от 55% до 76% за три месяца экспозиции. Активность нефтеокисляющей микрофлоры была высокой практически на всех вариантах опыта, независимо от применяемых ГП. Уровень биодеструкции мазута, по сравнению с дизельным топливом, был значительно ниже, что мы связываем с физико-химическими свойствами данного нефтепродукта. Так, на контрольных вариантах опыта (без ГП) процессы его биоутилизации практически не протекали. Однако на вариантах с внесением ГП отмечалась стимуляция активности микробиодеструкторов: при использовании препарата «Экорост» степень биодegradации мазута возросла до более чем 30%, а применение препарата «Гуми» позволило увеличить данный показатель до 73%.

Таким образом, установлено, что совместное применение биодеструктора и ГП позволяет увеличить эффективность очистки нефтезагрязненных вод от 5 до 90% в зависимости от характера и концентрации загрязнения, а также применяемого препарата.

Исследования проведены при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Рязанской области № 18-45-623003 p_мол_a «Исследование влияния биоПАВ на основе гуминовых веществ на процессы микробиологической ремедиации природных сред, загрязненных нефтепродуктами».

СОРТОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ ГОРОХА ПО СОДЕРЖАНИЮ ГАМК И СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ, ОБРАЗОВАНИЕ КОТОРЫХ СВЯЗАНО С ЦИКЛОМ КРЕБСА

Т. С. Чичиль, А. Исмаила, А. Н. Ершова

Воронежский государственный педагогический университет, 394043, Воронеж, ул. Ленина, 86;
profershova@mail.ru

У животных и человека непротеиногенная аминокислота ГАМК выступает в роли нейромедиатора центральной нервной системы. Вследствие этого растения с повышенным содержанием ГАМК стали использовать для получения сбалансированного и функционального питания человека. Известно, что ГАМК может накапливаться в растениях при стрессах в значительных количествах, повышая их устойчивость. Однако в последние годы было показано, что существуют не только межвидовые, но и сортовые особенности культурных растений как по степени устойчивости, так и по содержанию метаболитов (углеводы, фенольные соединения). Однако анализ сортовых особенностей растений по содержанию свободных аминокислот практически не проводился. Исследовали в разных сортах растений гороха содержание ГАМК и свободных аминокислот, образование которых связано с функционированием цикла Кребса.

Объектами исследования служили проростки гороха (*Pisum sativum* L.) десяти сортов, выращенных методом водных культур на свету. Семена были получены из коллекции кафедры растениеводства ВГАУ (Воронеж) и относились к раннеспелым и среднеспелым, рекомендованным для выращивания в Центральном регионе, кроме сорта Нордд. Навеску растений (0,4–0,5 г), фиксировали десятикратным объемом 96% этанола, нагретого до +60°C. Спиртовой экстракт фильтровали, упаривали (+60°C) и растворяли в 2 мл 10% изопропанола. Аминокислоты разделяли методом восходящей хроматографии в его микромодификации в системе н-бутанол: уксусная кислота: вода (4:1:5). Хроматограммы проявляли раствором нингидрина. Аминокислоты элюировали 4,5 мл 75%-этанола, насыщенного $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Оптическую плотность растворов измеряли при 500 нм (СФ-56, Россия). Содержание аминокислот рассчитывали по калибровочным кривым в мкмоль г⁻¹ сырой массы. Опыты проводились в трех биологических и двух химических повторностях.

Показано, что наибольшим содержанием ГАМК от $3,20 \pm 0,08$ до $4,26 \pm 0,01$ мкмоль г⁻¹ сырой массы характеризовались сорта Рамонский 83, Рамонский 77, Флагман, Талловец 50, Ордовчанин и Норд. Эти же сорта отличались и более высоким содержанием глутаминовой кислоты ($7,65 \pm 0,06$ до $10,70 \pm 0,07$ мкмоль г⁻¹ сырой массы). Значительно меньшие количества ГАМК обнаружены в сортах Рамонский 90, Талловец 55, Орловчанин 2 и Малиновка. Сорт Малиновка при невысоком содержании ГАМК, отличался достаточно высоким уровнем глутамата. Содержание аминокислоты α -аланина, образование которой также связано с функционированием цикла Кребса, было значительно ниже у всех сортов, что характерно для бобовых культур. Проведенные исследования впервые показали значительное варьирование содержания аминокислот ГАМК и глутамата в разных сортах растений гороха. Полученные результаты можно использовать как при выборе сортов, так и селекции гороха, важнейшей зернобобовой культуре России.

ПАРАМЕТРЫ ОТРАЖЕНИЯ ПОБЕГОВ В КАЧЕСТВЕ ПРЕДИКТОРОВ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ЗАСУХЕ

Д. М. Чурикова, Ф. Ф. Абдуллаев, Д. С. Киор, Я. А. Ветрова, О. Н. Шерстнева
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dashachuricova@gmail.com

Одна из приоритетных задач современной селекции – это ранний отбор потенциально наиболее устойчивых и высокоурожайных сортов сельскохозяйственных растений. Для этого в настоящее время ведётся активный поиск методов, позволяющих связать характеристики растений в начальных стадиях роста с их итоговой продуктивностью и толерантностью к действию стрессовых условий. Для решения этой задачи исследуется возможность применения оптических методов фенотипирования, которые отличаются высокой производительностью и неинвазивностью.

Цель работы – поиск параметров отражения проростков пшеницы, способных стать предикторами засухоустойчивости на ранних этапах развития растений.

Объектами исследования выступали проростки пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) яровой 20 сортов, выращенных при температуре 24°C, и фотопериоде 16/8 ч. Через 2 недели после высаживания в грунт производилась оценка параметров отражения растений с помощью гиперспектральной камеры (Specim IQ, Spectral Imaging Ltd., Финляндия), а также фотосинтетической активности с помощью системы РАМ-имиджинга (Phenovation B.V., Нидерланды); затем у растений опытной группы прекращался полив. Через 10 дней у проростков обеих групп анализировались морфометрические параметры. В качестве основного критерия устойчивости побегов пшеницы к засухе использовалась величина остаточного сухого веса растений опытной группы в сравнении с контролем (Индекс засухоустойчивости). Связь параметров отражения с устойчивостью растений в более позднем возрасте анализировалась с помощью корреляционного анализа.

В ходе исследования было показано, что значения интенсивности отражения 14-дневных проростков в диапазоне от 715 до 1000 нм отрицательно коррелировали со значением Индекса засухоустойчивости. Анализ связи нормализованных разностных индексов (NDI), рассчитываемых в диапазоне длин волн от 400 до 1000 нм, продемонстрировал статистически значимую отрицательную связь между NDI в области λ_1 730-990 нм, λ_2 410-690 нм и Индексом засухоустойчивости. Выявленные спектральные предикторы засухоустойчивости продемонстрировали положительную корреляционную связь с рядом показателей активности фотосинтеза преимущественно в диапазоне от 750 до 1000 нм. Можно предположить, что такой характер связи в указанном диапазоне обусловлен структурными особенностями мезофилла листа, влияющими как на спектральные свойства побегов, так и на устойчивость растений к засухе. Полученные результаты указывают на перспективность использования параметров отражения для прогнозирования устойчивости проростков пшеницы к засухе и отбора потенциально засухоустойчивых генотипов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00212.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРИЗНАКОВ ЛУГОВЫХ РАСТЕНИЙ В ХОДЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ СУКЦЕССИИ ПАСТБИЩНОЙ ЭКОСИСТЕМЫ

Е. Н. Шадрина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
ENShadrina@stud.kpfu.ru

Функциональные признаки – различные морфологические, физиологические или фенологические признаки растений, отражающие их способность адаптироваться к различным условиям среды. Их изучение позволяет выявлять связи между организмами и компонентами среды, оценивать отклик видов на сукцессионные изменения, характеризовать сукцессионные стратегии видов.

Изучены функциональные признаки растений суходольных фитоценозов ландшафтного урочища «Ильинская балка» (Зеленодольский район Республики Татарстан). На различных участках балки выпас был прекращен в разное время: в 2002 и 2020 гг. Проверялось предположение, что в ходе восстановительной сукцессии будет усиливаться конкуренция между видами, что будет сопровождаться усилением варьирования функциональных признаков из-за перестройки экологических ниш видов. Цель работы: оценить изменчивость функциональных признаков растений экосистемы в ходе восстановления после отмены выпаса. Задачи: выполнить сбор и измерение образцов листьев растений на участках бывших пастбищ; провести сравнительный анализ изменчивости функциональных признаков видов; оценить общее функциональное разнообразие сообществ, находящихся на начальной и продвинутой стадиях сукцессии.

Сбор полевого материала проводился 13.07.2022 г. Выполнены геоботанические описания, собраны образцы листьев 12 видов растений (1170 образцов), измерена высота генеративных побегов всех видов. Для каждого листа измерены функциональные признаки: SPAD (условное содержание хлорофилла), длина с черешком, площадь, сухой вес, рассчитан SLA (отношение площади листа к весу). Статистическая обработка данных проведена расчетом коэффициентов корреляции Пирсона, критерия Стьюдента и Манна-Уитни, проведением теста Шапиро-Уилка в среде Rstudio.

Результаты. В ходе сукцессии заметно удлинение побегов у видов разнотравья, граминоиды (злаки и осоки) не показывают различий. Площадь листьев и SPAD возрастает у большинства видов. По наличию значимых связей между большинством признаков листьев, что характеризует способность видов адаптироваться к условиям среды, разнотравье разделилось на группы: раннесукцессионные виды (василек луговой, бедренец камнеломковый, щавель кислый, ястребинка волосистая), позднесукцессионные (подорожник средний, манжетка, лютик многоцветковый) и виды, признаки которых относительно стабильны (подорожник ланцетный, черноголовка обыкновенная, короставник полевой). Проверка наличия связи между значениями признака на ранней и продвинутой стадиях показала, что у большинства видов связаны показатели площади листа и SPAD. Общее функциональное разнообразие сообществ продвинутой стадии сукцессии примерно в два раза выше по всем средневзвешенным значениям признаков. Особенно выражено увеличение разнообразия длины побегов, наименее – веса листьев.

ПОИСК НОВЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ С ВЫСОКОЙ КИСЛОТООБРАЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ И СПОСОБНОСТЬЮ К ПОДАВЛЕНИЮ РОСТА ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Д. М. Шакирова

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

Активность кислотообразования является важной биологической характеристикой молочнокислых бактерий (МКБ). Уровень кислотообразования бактериальной культуры характеризует ее биохимическую активность и влияет на проявление антагонистических свойств. В процессе силосования кормов молочная, уксусная и другие кислоты, образующиеся в ходе жизнедеятельности этих бактерий, способствуют разрушению клеточных структур в растительной массе и таким образом способствуют ее лучшей усвояемости, помогают поддерживать оптимальный кислотно-щелочной баланс в желудочно-кишечном тракте животных, стимулируют иммунную систему. Целью работы являлось сравнение кислотообразующей способности различных штаммов МКБ, оценка микробного разнообразия в силосе при добавлении различных штаммов МКБ, оценка антагонистических способностей различных штаммов МКБ.

В первой части работы использовали 14 штаммов МКБ, выделенных нами ранее из растительного сырья: силоса, квашеных и свежих овощей. Для измерения уровня кислотообразования бактерии культивировали на среде MRS в течение суток, после чего измеряли клеточную плотность популяции, уровень pH и титруемую кислотность. Известно, что при определении скорости закисления снижение pH среды на 0.4 ед. менее чем за 3 ч, позволяет отнести культуру к быстро закисляющим; за 3-5 ч – средне закисляющим; более чем за 5 ч – медленно закисляющим. Показали, что все исследованные штаммы МКБ обладали способностью к кислотообразованию, при этом 4 штамма отнесены к быстро закисляющим и 10 – к средне закисляющим.

Во второй части работы делали высевы на средах MRS, эндо, манитол и LA для измерения уровня роста различных микроорганизмов. Все штаммы показали хорошую способность к подавлению роста патогенных микроорганизмов, при этом можно выделить два штамма, показавших наибольшую способность к подавлению.

Отобранные нами штаммы с высокой активностью кислотообразования при низкой плотности популяции и способные подавлять рост патогенных микроорганизмов обладают большим потенциалом практического использования в отдельных отраслях биотехнологии.

РНФ (грант № 22-16-00040).

ПРОТИВОЛУЧЕВЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТА ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО В ОТНОШЕНИИ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ

Э. Н. Шамилов, А. С. Абдуллаев, Г. Р. Аллахвердиев, Р. Г. Гарибов

Институт радиационных проблем Министерства науки и образования Азербайджанской Республики, AZ 1143, Баку Респ. Азербайджан, ул. Б. Вагабзаде, 9;

Шалфей – известное лекарственное растение и часто применяется в медицинской практике разных стран мира. Экстракты лекарственного шалфея ингибируют процесс ангиогенеза и тем самым оказывают антимагистатическое воздействие. Маноол, дитерпен из листьев шалфея, оказывает избирательное токсическое действие на опухолевые клетки, не затрагивая нормальные клетки. Благодаря своему богатому химическому составу экстракт шалфея широко используется во всех разделах медицины как антиоксидантное, иммуномодулирующее, противовоспалительное средство.

Исходя из вышеизложенного, представляется интересным изучить противолучевые свойства экстракта шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), произрастающего на территории Азербайджана.

Целью исследований являлось получение экстракта из листьев шалфея лекарственного и изучение его противолучевых свойств в отношении облученных семян пшеницы сорта Гюнашли.

Для исследований использовали листья шалфея лекарственного в фильтр-пакетах производства «Herba Flora», приобретённые в розничной аптечной сети. Проведены фитохимические исследования по изучению химического состава.

В опытах с растениями использовались семена пшеницы сорта Гюнашли. Семена облучались на установке УРИ (К-25) при мощности дозы 13,4 рад/сек, источник – ^{60}Co , доза составила 200 Гр. После облучения семена пшеницы обрабатывали растворами экстракта и проводили эксперименты в полевых условиях. Были проанализированы следующие группы растений: контрольные, облученные в дозе 200 Гр без обработки и обработанные 0,1%, 0,01% и 0,001% концентрациями экстракта.

Морфологические параметры и динамику роста проростков пшеницы измеряли каждые 7 дней в течение месяца. Количество хлорофилльных пигментов, каротиноидов, малонового диальдегида измеряли на спектрофотометре Мультискан ГО. Флуоресценцию хлорофилла в листьях измеряли с помощью прибора MINI-PAM.

На начальных стадиях развития в первые 10 дней эффект не был замечен. В конце первого месяца проростки, полученные из гамма-облученных семян, обработанные 0,01% раствором шалфея лекарственного показали лучшие результаты в росте и развитии. На заключительном этапе экспериментов длина проростков сравнялась с контрольным вариантом и даже превзошла их.

Установлено, что 0,01% раствор экстракта *Salvia officinalis* устраняет вредное воздействие гамма-излучения, нормализует рост растений, синтез фотосинтетических пигментов в листьях, работу фотосистемы II в хлоропластах и уменьшает процесс перекисного окисления липидов мембран клеток.

ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ ПЛАЗМЫ И ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОМАМИ

Д. С. Шапкина¹, Е. В. Балавина¹, Л. М. Обухова², И. А. Медяник², Т. А. Веселова¹

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Dasy01@mail.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

В процессе неопластической трансформации клеток головного мозга наблюдаются значительные перестройки липидного обмена, которые могут способствовать их метаболической пластичности в быстро изменяющемся микроокружении. Идентификация различий в составе липидов между нормальными и опухолевыми тканями головного мозга, а также изучение липидного спектра плазмы крови в организме с опухолью может способствовать выявлению возможных дополнительных биомаркеров глиом. Цель работы – провести сравнительный анализ липидного профиля плазмы и опухолевой ткани пациентов с глиомами.

Материалами исследования липидного профиля служили плазма крови, а также образцы опухолевой ткани пациентов с глиомами 3-й и 4-й стадий глиомагенеза – 21 образец. Контролем служили образцы нормальной ткани головного мозга и плазма крови практически здоровых доноров – 10 образцов. Липиды экстрагировали методом Фолча с модификациями, фракционировали методом тонкослойной хроматографии с использованием двух систем растворителей: хлороформ – метанол – вода – н-гептан (65:25:4:9) для разделения фосфолипидов и н-гептан – диэтиловый эфир – уксусная кислота (95:4:1) для разделения нейтральных липидов. Количественное содержание идентифицированных липидов рассчитывали с помощью программы ImageJ.

В представленной работе в плазме крови пациентов с глиомами наблюдали статистически значимое увеличение уровня триглицеридов на 24,5% – при Grade III, на 54,6% – при Grade IV; эфиров холестерина при Grade III на 12,8% и Grade IV на 18,2% и холестерина при Grade III – на 32,1%, при Grade IV – на 53,9% по сравнению с показателями практически здоровых доноров. При исследовании фосфолипидного профиля плазмы пациентов с глиомами наблюдали снижение содержания фосфатидилэтаноламинов на 45,63% при 3 степени анаплазии и на 49,7% при 4 степени; фосфатидилхолинов – только при 4 степени – на 53,6%; сфингомиелинов – на 54,2% при 3 степени анаплазии и на 57,6% – при 4 степени. Уровень ЛФХ в плазме при глиомах на разных стадиях опухолевого роста превышал контрольные значения практически в 2 раза. Как следствие обнаруженных липидных перестроек в плазме крови пациентов с глиомами повышалось соотношение нейтральные липиды/фосфолипиды по сравнению с контролем.

В опухолевой ткани на 3 и 4-х стадиях глиомагенеза по сравнению с нормальной тканью головного мозга обнаружено лишь достоверное увеличение содержания триглицеридов в среднем на 50%. Достоверных изменений в содержании отдельных фракций фосфолипидов, холестерина и его эфиров не обнаружено.

Накопление триглицеридов в опухоли может быть связано с агрессивным течением опухолевого роста. Таким образом, триглицериды плазмы, уровень которых коррелировал с таковым в опухолевой ткани, могут служить дополнительным прогностическим маркером опухолевого роста.

ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ ПАЛЛАДИЯ И ЖЕЛЕЗА НА ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТЕТРА(4-БИФЕНИЛ)ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА

Л. Н. Шестакова^{1,2}, С. А. Лермонтова¹, Т. С. Любова¹, А. А. Горохова², Л. Г. Клапшина¹, И. В. Балалаева², Н. Ю. Шилягина²

¹Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49;

lshn1998@yandex.ru

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Модификация уже известных структур фотосенсибилизаторов (ФС) в настоящее время является актуальным подходом к разработке новых агентов для фотодинамической терапии (ФДТ). Среди таких модификаций можно выделить включение катиона металла в центр макроцикла. Соединения из группы цианоарилпорфиразинов представляют особый интерес как потенциальные ФС благодаря чувствительности их флуоресцентных свойств к вязкости локального микроокружения.

Нами были синтезированы и исследованы тетра(4-бифенил)тетрацианопорфиразины, содержащие катионы железа и палладия в центре макроцикла.

Для водных растворов данных металлокомплексов продемонстрировано наличие полос поглощения – в коротковолновой и длинноволновой области, а также флуоресценции в красной области спектра в диапазоне 600-650 нм. Показано, что исследуемые комплексы характеризуются высокой вязкостной чувствительностью и принадлежат к классу флуоресцентных молекулярных роторов.

В эксперименте на культуре клеток эпидермоидной карциномы человека A431 с использованием метода конфокальной лазерной микроскопии показано, что катион металла оказывает влияние как на скорость накопления, так и на внутриклеточную локализацию. Установлено, что комплекс железа диффузно распределяется в цитоплазме клетки, тогда как комплекс палладия преимущественно накапливается в ЭПР. Оценка темновой и световой токсичности комплексов показала, что наличие катиона палладия в центре макроцикла приводит к пятикратному увеличению фотодинамического индекса по сравнению с комплексом железа.

На клеточной линии A431, экспрессирующей генетически-кодируемый сенсор активации каспаз 3 Casper3BG, показано, что при фотодинамическом воздействии наблюдается развитие как каспаза-3-зависимых, так и каспаза-3-независимых путей клеточной гибели. Комплекс железаспособен активировать оба пути, тогда как фотодинамическое воздействие с комплексом палладия приводит к активации только каспаза-3-независимого пути гибели.

Сравнительный анализ тетра(4-бифенил)тетрацианопорфиразинов железа и палладия показал, что оба соединения обладают перспективными фотофизическими и фотобиологическими свойствами для решения задач фотодинамической терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-23-00515).

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ СИСТЕМА *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM* 1883 И ЕЁ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ТОКСИЧЕСКИМ ВЕЩЕСТВАМ

Ю. А. Шешина, А. Б. Сарангова, В. А. Кратасюк

Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, просп. Свободный, 79;
sheshinajulij@yandex.ru

Биолюминесцентная реакция бактерий нашла применение в разных областях практической деятельности, в том числе в оценке токсического влияния поллютантов. Биолюминесцентный анализ проводится с использованием как живой бактериальной культуры, так и с помощью очищенных ферментов, выделенных из биомассы рекомбинантных светящихся бактерий. Однако в ранних исследованиях показано, что выделенный низкоочищенный экстракт светящихся бактерий может быть активнее, стабильнее и более чувствителен к токсическим веществам по сравнению с рекомбинантными высокоочищенными коммерческими препаратами. Поэтому целью работы являлось выделение белкового экстракта, содержащего ферменты биолюминесцентной системы с полным внутриклеточным окружением, из природного штамма бактерий и описание его физико-химических характеристик.

В качестве объекта исследования выступал белковый экстракт, содержащий биолюминесцентную систему бактерий *Photobacterium phosphoreum* 1883 из коллекции ИБФ СО РАН г. Красноярск, которые принадлежат к мезофильной группе бактерий и представляют собой Гр- палочки, являются факультативными анаэробами.

Культивирование бактерий осуществлялось в жидкой и на твердой средах, биомасса отобрана в линейной фазе роста культуры. Процесс получения экстракта осуществлялся по стандартной технологии. Концентрацию белка в выделенном экстракте оценивали методом Лоури. Константа Михаэлиса определялась на основании зависимости максимальной интенсивности биолюминесценции от концентрации субстратов. Значения константы Михаэлиса полученного экстракта сравнивались со значениями этой константы высокоочищенного коммерческого препарата.

Полученные значения K_m показали, что сродство фермента к FMN для обоих препаратов одинаково, в то время как значение K_m C14 нативного образца на порядок превышает высокоочищенный, а значение K_m NADH ниже в 30 раз. Это говорит о том, что суммарное сродство ферментов белкового экстракта, выше к NADH и ниже к C14 в отличие от высокоочищенного препарата.

Полученный образец использован в экспериментах по определению чувствительности биолюминесцентной системы *P. phosphoreum* 1883 к модельным токсическим веществам: $CuSO_4$, $ZnSO_4$. Для оценки анионно-катионного влияния в схему эксперимента были включены хлориды этих металлов ($CuCl_2$, $ZnCl_2$).

Показано ингибирующее воздействие исследуемых токсикантов на белковый экстракт. Характер воздействий одинаковых катионов подобен друг другу и более существенен по сравнению с влиянием анионов, что подтверждает ранее полученные результаты, что воздействие солей тяжелых металлов на бактериальную биолюминесцентную систему связано именно с действием катионов.

Таким образом, полученные результаты показывают возможности практического применения низкоочищенного белкового экстракта для мониторинга окружающей среды.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПТСР У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ САМЦОВ КРЫС, РОДИВШИХСЯ ОТ СТРЕССИРОВАННЫХ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ РОДИТЕЛЕЙ, НАРУШАЕТ ПАМЯТЬ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ ИХ ПОТОМКОВ

Е. Д. Шигалугова, Г. И. Холова

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6;
yshigalugova@bk.ru

Введение. Пренатальный стресс (ПС), вызванный стрессом родителей в течение беременности, имеет сложные неврологические, поведенческие и физиологические проявления в последующей жизни.

В настоящее время остро стоит проблема выявления неблагоприятных факторов, которые повышают генетическую предрасположенность к развитию психических заболеваний, вызванных сильными психоэмоциональными стрессорами. Показано, что ПС самцы характеризуются повышенной чувствительностью к стрессорным воздействиям. Ранее нами было показано, что стрессирование самцов-отцов в парадигме «стресс-рестресс» (модель ПТСР) проявляется у их потомков преимущественно самцов в виде различных нарушений поведения, памяти и гормональных функций. Мы предположили, что аналогичное стрессирование ПС самцов до спаривания с самками может привести к более значительным нарушениям поведения и гормональных функций у их потомков.

Цель настоящего исследования состояла в выявлении эффекта ПТСР-подобного состояния взрослых ПС самцов – родителей на память и гормональные функции их потомков обоего пола, а также экспрессию гена инсулиноподобного фактора роста 2 (Igf2) в мозге потомков.

Материалы и методы. Работа проведена на взрослых самцах Вистар, родившихся от самок, подвергнутых ежедневной иммобилизации в течение 1 ч с 15-19 день беременности (ПС самцы). В период сперматогенеза ПС самцов подвергали травматическому стрессу с последующим рестрессом на 7 сут. Через 48 сут самцов спаривали с интактными самками, дальнейшие эксперименты выполнены на их потомстве обоего пола. Память самцов изучали в тесте реакция пассивного избегания (РПИ). У взрослых потомков оценивали экспрессию гена Igf2 в гиппокампе и неокортексе методом ПЦР в режиме реального времени. Уровень тестостерона и эстрадиола определяли методом ИФА.

Результаты. Пренатальный стресс у самцов-родителей способствует ухудшению памяти и снижению экспрессии Igf2 в мозге потомков обоего пола, если таких самцов дополнительно стрессировали до спаривания. У потомков мужского пола обнаружено снижение уровня тестостерона, а у потомков женского пола – уровня эстрадиола.

Вывод. Выявленные изменения памяти и экспрессии гена инсулиноподобного фактора роста 2 в мозге потомков ПС самцов с ПТСР-подобным состоянием во время сперматогенеза, могут быть обусловлены снижением уровня половых гормонов в их крови.

ВЛИЯНИЕ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ТРЕНИРОВОК НА ИЗМЕНЕНИЕ ПРОВОДИМОСТИ И СОХРАННОСТИ СПИННОГО МОЗГА ПОСЛЕ ЕГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Р. Р. Шуганова¹, Э. Ф. Давлетшин¹, Д. Х. Сабиров¹, Т. В. Агеева¹, Я. О. Мухамедшина^{1,2}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *shg_rzd@mail.ru*

²Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

Травма спинного мозга (ТСМ) вызывает серьезные нарушения функционирования центральной нервной системы, осложняющие социальные и физические аспекты жизни человека. Цель исследования – влияние двигательных тренировок на восстановление после ТСМ, оценка двигательных функций и сохранности нервной ткани. Для этого был проведен электромиографический анализ и тест оценки локомоторных функций ВВВ. При этом крысам опытной группы наносили контузионную ТСМ при помощи импактора и проводили двигательную реабилитацию. Полученные данные показывают, что контролируемые упражнения на беговой дорожке значительно улучшают двигательные функции после ТСМ. Начиная с 11 дня в группе с реабилитацией наблюдалось увеличение показателей ВВВ, указывающее на более выраженное восстановление двигательных функций. Улучшения были отмечены в способности поддерживать тело, снижении клиренса и увеличении двигательной активности в суставах задних конечностей. Сравнительный анализ групп выявил статистически значимые различия между группами с реабилитацией и без с 11-го по 28-й день. Показатель ВВВ в группе, контролируемой реабилитацией, был \approx в 1,5 раза выше, чем в группе без неё на протяжении всего эксперимента. Наибольший уровень двигательной активности был зафиксирован на 28-й день в группе реабилитированных, достигнув $[10,92 \pm 2,81]$ баллов по шкале ВВВ, напротив в группе без реабилитации данный показатель составил $[6,61 \pm 3,01]$. На 28 сутки наблюдалось значительное снижение амплитуды М-ответа в группах с большими различиями между реабилитированными и интактными группами [тренированные $25,47 \pm 3,79$ мкВ, интактные $40,1 \pm 7,14$ мкВ]. Амплитуда Н-ответа также снизилась в 2,5-3,7 раза в группах без реабилитации [$3,02 \pm 1,29$ мкВ] и с ней [$2,04 \pm 1,44$ мкВ] по сравнению с группой интактных животных [$7,69 \pm 3,63$ мкВ]. На 28 дни регистрировали поясничные SEP только в 41% и 27% случаев в группах реабилитированных и нет, соответственно. Также наблюдалось резкое снижение средней амплитуды пика N1 как в группе реабилитированных [$1,34 \pm 1,71$ мкВ], так и без неё [$0,99 \pm 0,16$ мкВ] по сравнению с интактными животными. Помимо этого, был проведен морфологический анализ поврежденного спинного мозга с помощью гистологического окрашивания продольных срезов в области травмы. На 28 день в образцах травмированных групп без реабилитации и с реабилитацией сохранность нервной ткани в среднем снижается до 60,39% против 70,81%. Анализ показал значимую корреляцию между показателем ВВВ на 28 сутки, размером патологических полостей и сохранностью тканей спинного мозга в группе с тренировкой. Таким образом, исследование подтвердило, что тренировки на беговой дорожке способствуют восстановлению после ТСМ, улучшая двигательную функцию и сохранность нервной ткани.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского Федерального Университета (Приоритет-2030).

**ГЕЛЬМИНТОФАУНА ЖАБЫ СЕРОЙ (*BUFO BUFO*, LINNAEUS, 1758),
ОСТРОМОРДОЙ ЛЯГУШКИ (*RANA ARVALIS*, NILSSON, 1842) И ЧЕСНОЧНИЦЫ
ОБЫКНОВЕННОЙ (*PELOBATES FUSCUS*, LAURENTI, 1768) НА ПРИМЕРЕ
БИОТОПОВ В ОКРЕСТНОСТЯХ СЕЛА ПУСТЫНЬ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

П. С. Шилина

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shilinaoliana02@gmail.com

Интерес к исследованию паразитофауны систематически близких видов животных в последнее время повышается и связан с ее особенностями, складывающимися у видов со сходной экологической нишей в местах их совместного обитания. На амфибиях это изучено достаточно слабо, хотя они являются удобным объектом для биомониторинга и биоиндикации среды. Целью работы является сравнительный анализ гельминтофауны амфибий семейств *Ranidae*, *Pelobatidae* и *Bufo*, обитающих на одной территории.

Материал был собран в июле 2023 г. в окрестностях с. Пустынь (Арзамасский район Нижегородской области). Методом ручного сбора было отловлено 30 особей амфибий (8 особей *Pelobates fuscus*, 12 *Rana arvalis* и 10 *Bufo bufo*). Все особи были исследованы методом полного гельминтологического вскрытия по Скрябину. Определение вида проводилось с применением 5% молочной кислоты для просветления покровов.

В указанной местности гельминтофауна изучаемых амфибий представлена четырьмя видами паразитических червей: *Rhabdias bufonis* (Schrank, 1788), *Oswaldocruzia filiformis* (Goeze, 1782), *Cosmocerca ornata* (Dujardin, 1845), *Neoxysomatium brevicaudatum* (Zeder, 1800). Общими для всех трех видов амфибий оказались 2 вида гельминтов: *O. filiformis* и *C. ornata*. Вследствие преимущественно наземного образа жизни гельминтофауна сформирована геогельминтами с прямым циклом развития. Обнаруженные виды обычны для исследуемых амфибий.

В ходе исследования применялся метод главных компонент, который позволил выделить 3 главных фактора, определяющих зараженность амфибий. Первый фактор (50%), вероятно, определяет зараженность амфибий видами *R. bufonis* и *C. ornata*, а также связан с размером амфибий. Фактор отрицательно связан с видами *O. filiformis* и *N. brevicaudatum*. Для второго фактора (25%) можно предположить, что он определяет остаточное заражение и влияет на зараженность амфибий видами *O. filiformis* и *N. brevicaudatum*. Третий фактор (15%), предположительно связанный с особенностями жизненных циклов, указывает на расхождение *O. filiformis* и *N. brevicaudatum* по разным нишам при заражении особи обоими видами.

Расчет критерия Краскела-Уоллиса показал значимые отличия ($p < 0.001$) по количеству паразитов между *B. bufo* и *P. fuscus* и *R. arvalis*. По критерию Ньюмена-Кейлса не найдено значимых отличий по количеству паразитов между *P. fuscus* и *R. arvalis*. Обнаружено, что увеличение зараженности амфибий гельминтом *R. bufonis* статистически значимо ($p < 0,05$) коррелирует с увеличением зараженности гельминтом *C. ornata*. Корреляция между размером особи и уровнем зараженности отсутствует.

Полученные данные указывают на значимые отличия гельминтофауны *B. bufo* от гельминтофауны *P. fuscus* и *R. arvalis* по уровню зараженности несмотря на то, что данные виды амфибий характеризуются сходной биологией и собраны на одной территории.

ВЛИЯНИЕ СУБМИКРОНЫХ ЧАСТИЦ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОДУКЦИЮ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ ГРИБОМ *CHAETOMIUM GLOBOSUM*

Я. Л. Широков, Н. А. Аникина, В. Ф. Смирнов, А. В. Корягин

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shirokov.yaroslave@yandex.ru

Микромицеты принимают активное участие в процессах биоповреждения промышленных материалов, ухудшая их эксплуатационные характеристики. Органические кислоты, наряду с другими метаболитами грибов, участвуют в процессах разрушения промышленных материалов, являясь не только участниками акта деструкции, но и питательным субстратом для других микроорганизмов, усугубляя биodeградацию. Основным способом защиты промышленных материалов от биоповреждений является введение в их состав различных биоцидов, ингибирующих метаболизм грибов, в т.ч. и синтез кислот.

Известно, что микрочастицы фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов способны оказывать ингибирующее воздействие на рост грибов-биодеструкторов за счет разрушения их мембран, инактивации ферментов и образования активных форм кислорода (АФК) под действием света. Целью данной работы являлось исследование воздействия субмикронных частиц фотокаталитически активных оксидов металлов WO_3 , $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1,5}W_{0,5}O_6$ на накопление в среде культивирования органических кислот гриба *Chaetomium globosum*.

Исследовались субмикронные частицы WO_3 , $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1,5}W_{0,5}O_6$ со средним размером ≈ 700 нм. $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1,5}W_{0,5}O_6$ впервые были получены в НИИ Химии ННГУ (г. Н. Новгород). WO_3 представлен химически чистым реактивом. Штамм гриба *C. globosum* F-109 активный деструктор промышленных материалов (ВКМ, г. Пушкино, Россия). Использовался источник светового излучения мощностью 50 Вт с поверхностной плотностью потока излучения 524 Вт/м^2 . Качественный и количественный состав органических кислот в культуральной жидкости определяли методом капиллярного электрофореза («КАПЕЛЬ®-105М»). Культивирование *C. globosum* проводили на жидкой среде Чапека-Докса с навесками исследуемых соединений в концентрации 2 мг/мл в течение 7 суток на свету и в условиях темноты (контроль – без частиц).

Показано, что данный штамм является активным кислотообразователем. Ведение в среду культивирования исследуемых частиц привело к уменьшению количества органических кислот в культуральной жидкости в условиях темноты (за исключением янтарной кислоты в случае субмикронных частиц $CsTeMoO_6$). Воздействие света увеличивало подавление продукции органических кислот микромицетом, что может быть обусловлено фотокаталитической активностью исследуемых частиц. В большей степени произошло уменьшение концентрации уксусной и щавелевой кислот, в меньшей янтарной и молочной. Отмечено так же полное ингибирование синтеза отдельных органических кислот (винной, муравьиной, яблочной).

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-2024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

БЫСТРАЯ ДЕКОМПРЕССИЯ И ПОВЫШЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ ПРИВОДИТ К УВЕЛИЧЕНИЮ ОБРАЗОВАНИЯ ЛАКТАТА У БАЙКАЛЬСКИХ ЭВРИБАТНЫХ АМФИПОД РОДА *OMMATOGAMMARUS*

Ю. А. Широкова¹, Е. В. Мадьярова¹, В. К. Помазкин¹, Ж. М. Шатилина^{1,2}, М. А. Тимофеев^{1,2}

¹НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ», 664003, Иркутск, ул. Леинна, 3;
yuliashirokova2501@gmail.com

²Байкальский исследовательский центр, 664011, Иркутск, ул. Рабочая, 5в

В озере Байкал обитает единственная в мире глубоководная пресноводная фауна, в том числе амфипод. Для исследования влияния на глубоководных амфипод изменений факторов среды, необходим их подъем на поверхность и сопутствующее снижение давления до атмосферного. Ранее показано, что у эврибатных амфипод *Ommatogammarus flavus* (Dyb., 1874) и *O. albinus* (Dyb., 1874) после акклимации при атмосферном давлении происходит снижение содержания гликогена и повышение активности лактатдегидрогеназы. Активность фермента могла повыситься с использованием энергии, запасенной в форме гликогена, для утилизации накопившегося в тканях амфипод лактата, который является продуктом анаэробного гликолиза и указывает на противодействие стрессу. Известно, что при стрессовом воздействии из-за недостаточного поступления кислорода, растворимость которого снижается при уменьшении давления, может происходить активация анаэробного гликолиза как альтернативного пути получения энергии. Кроме этого, неизвестно, сохранили ли байкальские глубоководные амфиподы, обитающие при стабильной температуре среды (4°C), способность реагировать на изменение температуры. Целью исследования было оценить динамику содержания лактата при быстрой декомпрессии и изменении температуры у байкальских эврибатных амфипод.

Для проверки влияния глубины вылова на содержание лактата амфипод *O. flavus* отлавливали с глубин от 50 до 500 м, *O. albinus* – от 150 до 1000 м. С целью сравнения содержания лактата у амфипод после вылова и лабораторной акклимации при атмосферном давлении использовали *O. flavus* с глубины 100, 150 и 200 м и *O. albinus* с 500 м. Длительность акклимации составила до 27 дней, затем животные были зафиксированы в жидком азоте. Для экспериментов с изменением температуры *O. flavus* акклимировали неделю при 4°C. Проводили постепенное (1°C/ч) понижение и повышение температуры от 4°C. Амфипод фиксировали в жидком азоте при достижении следующих температур: 0,5, 1, 2, 4 (контроль), 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 и 22°C.

Было показано, что содержание лактата статистически значимо не зависит от глубины вылова исследуемых амфипод. После акклимации при атмосферном давлении у *O. flavus* и *O. albinus* происходило статистически значимое снижение содержания лактата. Статистически значимое повышение содержания лактата у *O. flavus* происходило только при повышении температуры среды при достижении 18, 20 и 22°C.

Таким образом, быстрая декомпрессия и повышение температуры приводит к активации анаэробного гликолиза у байкальских эврибатных амфипод рода *Ommatogammarus*.

ВОЗРАСТНЫЕ РАЗЛИЧИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В МОНОНУКЛЕАРАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕРЕБЦОВ

А. М. Шитикова^{1, 2}, М. М. Атрощенко², В. И. Звягина¹, Н. А. Фролова², О. В. Широкова²,
Е. М. Строкова¹

¹Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П.Павлова
Минздрава РФ, 390026, Рязань, ул. Высоковольтная, 9;
anyakudlaeva@mail.ru

²ФГБНУ «ВНИИ коневодства», 391105, Дивово Рязанской обл.

Возраст-опосредованные изменения влияют как на приобретенный, так и на врожденный иммунитет, нарушая их реакцию на внутренние и внешние раздражители, что приводит к «иммуностарению» и «воспалительному старению». Эффективность окислительного метаболизма, также уменьшается с возрастом, что способствует созданию связанной со старением воспалительной среды. Лошадь является признанной моделью исследования некоторых возрастных болезней, связанных с иммуностарением.

Целью данного исследования явилось изучение биохимического профиля мононуклеаров периферической крови молодых (3-5 лет), полновозрастных (6-15 лет) и жеребцов старшего возраста (16-25 лет).

В опытах использовали 34 жеребца чистокровной арабской породы в возрасте от 3 до 25 лет. В выделенных мононуклеарных лейкоцитах периферической крови исследовали уровень окислительно-модифицированных белков, активность ферментов супероксид дисмутазы, каталазы, гамма-глутамилтранспептидазы, кислой фосфатазы, лактатдегидрогеназы.

Был выявлен статистически значимый рост общего содержания карбонильных производных в группе жеребцов старшего возраста по сравнению с полновозрастными жеребцами. Группа жеребцов младшего возраста характеризуется наибольшими показателями активности супероксид дисмутазы и кислой фосфатазы, статистически значимые изменения наблюдаются по сравнению с жеребцами старшего возраста. Полученные данные свидетельствуют о снижении с возрастом антиоксидантных резервов в мононуклеарных лейкоцитах жеребцов и о необходимости проведения антиоксидантной терапии у жеребцов старшего возраста.

При проведении исследований использовано оборудование ЦКП «Коллекция генетических ресурсов» ФГБНУ ВНИИ коневодства. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 20-16-00101-П.

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ДИМЕТАКРИЛАТ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ И ДИМЕТАКРИЛАТ ТРИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

А. Ю. Шишкин¹, К. А. Шишкина¹, Я. Л. Широков¹, В. Ф. Смирнов¹, Р. С. Ковылин², С. А. Чесноков²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
uandshi@yandex.ru

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

В ИМХ им. академика Г.А. Разуваева были получены новые полимерные материалы поли(диметакрилат триэтиленгликоля, poly-TEGDMA) и поли(диметакрилат этиленгликоля, poly-EDGMA) для использования в тканевой инженерии, оптике, стоматологии, микроэлектронике и т.д. В НИИ Химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского была исследована устойчивость этих полимеров и их компонентов к воздействию микроскопических грибов. Данные полимеры не обладали антимикробными свойствами и являлись неустойчивыми к действию грибов, а значит способны использоваться ими в качестве источника углерода и энергии, т.е. подвергаться процессу биоповреждения. Однако, мономеры TEGDMA и EDGMA проявляли противогрибковую активность. В научных публикациях сообщается, что TEGDMA и EDGMA способны проявлять цитотоксические свойства по отношению к фибробластам пульпы зуба. Механизмы цитотоксического действия объясняются индуцированием апоптоза, образованием активных форм кислорода и нарушением клеточного цикла. В связи с этим представлял интерес исследовать антимикробные свойства этих соединений по отношению к бактериям и грибам.

Материалы и методы: мономеры EDGMA и TEGDMA. В качестве тест-культур грибов использовали следующие штаммы: *Aspergillus oryzae* F-2096; *Aspergillus niger* F-1119; *Aspergillus terreus* F-1025; *Chaetomium globosum* F-109; *Paecilomyces variotii* F-378; *Penicilium funiculosum* F-1115; *Penicilium chrysogenum* F-245; *Penicilium cyclopium* F-245; *Trichoderma viride* F-1117. Штаммы бактерий *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Bacillus subtilis* ATCC 6051. Наличие антимикробных свойств мономеров определяли по диаметру зоны ингибирования роста микроорганизмов вокруг лунок с нанесенными веществами на питательной среде Чапека для грибов и на среде ГРМ-агар для бактерий.

Было установлено, что мономеры TEGDMA и EDGMA проявляли противогрибковую активность, но не влияли на выживаемость бактерий. Нами было отмечено, что TEGDMA проявляет более сильные биоцидные свойства, чем EDGMA, что может быть связано с особенностями их строения и механизмами воздействия на живые организмы. Различный ответ микроорганизмов на соединения может быть связан с физиолого-биохимическими особенностями микроорганизмов.

Исследование было выполнено с использованием оборудования центра коллективного пользования «Аналитический центр ИОМЦ РАН» при финансовой поддержке гранта «Обеспечение развития материально-технической инфраструктуры центров коллективного пользования научным оборудованием» (уникальный идентификатор RF-2296.61321X0017, номер соглашения 075-15-2021-670).

ВЛИЯНИЕ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ ЭНДОФЕНОЛОКСИДАЗЫ ГРИБОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ

К. А. Шишкина, А. Ю. Шишкин, В. Ф. Смирнов, А. В. Корягин

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Ksenia.loshadka@yandex.ru

Известно, что вновь синтезированные в НИИ Химии ННГУ, г. Н. Новгород, субмикронные частицы $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$, CsTeMoO_6 и WO_3 , проявили антимикробную активность относительно бактерий и микроскопических грибов, выступающих в роли основных биодеструкторов промышленных материалов. Антимикробные свойства оксидов тяжелых металлов зависят от ряда факторов: размера частиц и их формы, концентрации и т.д., а также за счет способности образовывать активные формы кислорода (АФК) под влиянием светового излучения. Образование АФК усиливает их антимикробную активность. В связи с этим данные оксиды тяжелых металлов могут использоваться для защиты промышленных материалов от биоповреждений, вызываемых микромицетами. Важную роль в процессах биоповреждения промышленных материалов и метаболизме грибов, а именно в синтезе меланина и поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза клеток, играет фенолоксидаза. В связи с этим, представлял интерес исследовать воздействие субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на активность эндофенолоксидазы грибов-деструкторов промышленных материалов.

Материалы и методы: субмикронные частицы WO_3 , $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , со средним размером частиц 674, 736 и 670 нм, соответственно, полученные в НИИ Химии ННГУ, г. Н. Новгород. Тест культуры грибов: *Penicillium cyclopium* F-245 и *Chaetomium globosum* F-109 из коллекции ВКМ (г. Пущино, Россия). Для культивирования микроскопических грибов использовали среду Чапека-Докса. Активность эндофенолоксидазы определяли спектрофотометрически (по методу Бояркина). Концентрация оксидов составляла 2 мг/мл. Источник светового излучения мощностью 50 Вт с поверхностной плотностью потока излучения 524 Вт/м². Определение количества белка для подсчёта удельной активности ферментов проводили с помощью метода Лоури.

Результаты: под действием субмикронных частиц $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на свету и в темноте происходило увеличение активности эндофенолоксидазы гриба *Penicillium cyclopium* и под действием WO_3 на свету и $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ как в темноте, так и на свету – в случае с *Chaetomium globosum*. Также нами было отмечено, что при действии этих соединений имело место накопление в мицелии грибов меланина – одного из важных компонентов антиоксидантной системы клеток. Известно, что в синтезе этого пигмента активное участие принимает эндофенолоксидаза, поэтому увеличение активности фермента приводит к накоплению меланина, который защищает клетки грибов от воздействия частиц, АФК и ионов тяжелых металлов.

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).

МАЛАКОФАУНА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ВОДОЕМОВ ИВАНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А. В. Школьник

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;
skolnakanastasia12@gmail.com

На территории Ивановской области расположены разнообразные типы водоемов. Они различаются происхождением, гидрологическим режимом, режимом питания и высоким разнообразием видового состава растений и животных. Сведения о малакофауне Ивановской области ограничены и разрознены. Актуальность изучения малакофауны заключается в использовании моллюсков для санитарно-гидробиологической оценки загрязнения водоемов.

Цель работы – фаунистический анализ малакофауны различных типов водоемов.

Исследования проводились в 2022-2023 гг. для ряда водоемов различного типа и происхождения, расположенных в 3 муниципальных образованиях Ивановской области.

5 площадок было заложено на территории Тейковского р-на: старые песчаные карьеры, новые песчаные карьеры, оз. Рубское, торфяные карьеры, руч. Золотоструйка;

1 площадка в черте г. Иваново: р. Уводь, в районе ул. Фабричного пр-да;

По 3 точки пробы отбора на р. Талка, Харинка, в черте г. Иваново и Ивановском р-не.

Сбор и обработка материала проводились по стандартным методикам, проводилось геоботаническое описание водоемов и мест отбора проб.

В результате проведенного исследования было выявлено 18 видов моллюсков, относящихся к 2 классам, 7 отрядам, 9 семействам. Самое многочисленное семейство – сем. *Planorbidae* представлено 6 видами.

Анализ результатов показал, что наибольшее видовое разнообразие моллюсков отмечено для точек отбора на р. Талка в черте г. Иваново и Ивановском р-не (7 видов). По 6 видов было отмечено на площадке торфяных карьеров. Это может быть обусловлено наиболее оптимальными условиями для роста и развития моллюсков: разнообразие субстратов, характер отложений, присутствие обильной растительности, которая является хорошей кормовой базой.

Для оценки сходства видового состава моллюсков изученных водоемов был рассчитан коэффициент Жаккара, который показал крайне низкую степень сходства малакофауны изученных водоемов. Индекс Жаккара колеблется от 9% до 37,5%, что свидетельствует о своеобразии групп моллюсков, характерных для каждого из обследованных водоемов.

Таким образом, можно сделать вывод, что для обследованных водоемов отмечается крайне низкая степень сходства малакофауны, что обусловлено своеобразием каждого водоема. Максимальный уровень сходства видового состава моллюсков (37,5%) отмечен для площадок ручей Золотоструйка и Торфяные карьеры, что обусловлено связью этих двух станций.

ИЗМЕНЕНИЕ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЖИВОТНЫХ С ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ

А. М. Шумилова, С. В. Трофимова

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alyona.shumilova02@gmail.com

Неравновесная плазма – это слабоионизованный газ, который содержит заряженные и нейтральные частицы, электрические поля, а также испускает излучение, охватывающее длины волн в инфракрасном, видимом и ультрафиолетовом диапазонах. Биорегуляторные эффекты плазмы разрядов обусловлены формированием первичных химически активных частиц кислорода и азота, а также вторичных и третичных соединений, таких как нитрит-анион, нитрат-анион, пероксинитрит, пероксиазотистая кислота и др. Использование плазмы разрядов в медицинских целях перспективно за счет модуляции ответа организма на воздействие различных режимов плазменной обработки. Целью работы было исследование влияния излучения газоразрядной плазмы на биохимические показатели крови и мочи интактных животных и животных с острой алкогольной интоксикацией.

Животные в эксперименте были разделены на 4 группы по 6 животных: 1 – интактные животные; 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 ЛД₅₀. Интактным животным вводили физиологический раствор. 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 этанола. Для анализа получали мочу и кровь. С помощью анализатора SUPER GL compact (Dr. Müller, Германия) в цельной крови определяли концентрацию глюкозы, лактата и гемоглобина. В эритроцитах и плазме определяли ВНиСММ по методу М.Я. Малаховой. Также в плазме крови спектрофотометрически оценивали концентрацию мочевины и креатинина с использованием тест-наборов АО «ДИАКОН-ДС». Общеклинический анализ мочи по 14 показателям выполняли на анализаторе DIRUI H-100 (Китай, DIRUI).

По результатам эксперимента не выявлено изменений клинико-лабораторных показателей у интактных животных после обработки излучением плазмы, что свидетельствует об отсутствии повреждающего действия. На фоне ОИЭ у животных наблюдалось развитие протеин-, уробилиноген-, креатинин- и гиперстенурии, Установлена общая тенденция к накоплению катаболического пула в плазме крови животных и снижение ВНиСММ на мембране эритроцитов, что отражает снижение их сорбционной способности под действием этанола. Зарегистрировано развитие лактоацидоза и анемии. Воздействие излучением плазмы на животных на фоне острой алкогольной интоксикации приводило к нормализации показателей крови и мочи до нормальных значений животных интактной группы. Таким образом, показано детоксицирующее воздействие излучения плазмы искрового разряда на организм при острой интоксикации этанолом.

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ НА ДИНАМИКУ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ МОЧИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е. В. Шутко

Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1;
e.shutko@g.nsu.ru

Одно из лидирующих мест по заболеваемости среди мужчин в настоящее время занимает рак предстательной железы (РПЖ). Распространенными методами лечения являются хирургическое вмешательство – радикальная простатэктомия (РПЭ) – и лучевая терапия (ЛТ). Тем не менее, примерно в трети случаев в течение 5 лет после лечения наблюдается развитие рецидива заболевания. Перспективным методом для оценки эффективности терапии и вероятности развития рецидива является анализ относительной экспрессии микроРНК внеклеточных везикул (ВВ) мочи, поскольку aberrантная экспрессия микроРНК наблюдается при развитии онкозаболеваний. Кроме того, в процессе терапии РПЖ наблюдается изменение экспрессии микроРНК, вовлеченных в развитие рака.

В настоящей работе было выполнено исследование динамики относительной экспрессии 14 микроРНК, вовлеченных в канцерогенез ПЖ и выбранных на основе литературных данных и биоинформатического анализа, в составе ВВ мочи здоровых доноров (ЗД) и больных РПЖ, образцы мочи которых были получены до терапии и через 3, 6 и 12 месяцев после РПЭ или ЛТ соответственно. Образцы мочи получены из ОПК и радиологического отделения НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск, Россия). ВВ выделены методом агрегации-преципитации с использованием полиэтиленгликоля и декстрана голубого; из полученной фракции ВВ были выделены микроРНК. Данные о пороговых циклах детекции микроРНК в образцах доноров получены методом ОТ-ПЦР. Статистическая обработка данных была выполнена в программе MedCalc Statistical Software. Работа выполнена в ИХБФМ СО РАН (Новосибирск, Россия).

С использованием дисперсионного анализа повторных измерений были определены пары (метод парной нормировки) микроРНК, достоверно изменившие экспрессию после терапии – РПЭ или ЛТ соответственно. Эти пары микроРНК можно разделить на 3 различные группы с одинаковыми паттернами динамики экспрессии для обоих видов терапии. Наиболее значимыми критериями для разделения пар микроРНК на группы были признаны направление изменения экспрессии после терапии и достоверные различия между уровнями экспрессии микроРНК до лечения и через год после. Особый интерес с точки зрения потенциальной оценки эффективности терапии представляют собой 10 и 27 пар микроРНК, относительная экспрессия которых после РПЭ или ЛТ соответственно приблизилась к таковой у ЗД, в том числе 5 пар, обладающих универсальной маркерной функцией, то есть пары, в перспективе подходящие для оценки эффективности и РПЭ, и ЛТ. Таким образом, была описана годовая динамика экспрессии микроРНК ВВ мочи после РПЭ или ЛТ, а также выявлены пары микроРНК – потенциальные маркеры эффективности РПЭ и ЛТ.

Грант РНФ №23-25-10026 в рамках поддержанного Правительством Новосибирской области проекта 0000005406995998235120582/ № р-45.

ЭКОЛОГИЯ ПОПУЛЯЦИИ СОНИ-ПОЛЧКА (*GLIS GLIS* L.) НА СЕВЕРНОЙ ГРАНИЦЕ АРЕАЛА В УСЛОВИЯХ ФРАГМЕНТИРОВАННОГО ЛАНДШАФТА

А. В. Щегольков¹, В. Н. Якимов¹, Д. М. Кривоногов¹, В. Н. Орлов²

¹ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mister.shegolkov@yandex.ru

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.В. Северцова РАН, 119071, Москва, просп. Ленинский, 33

Информация о распространении сони-полчка (*Glis glis* L.) на северной границе ареала крайне ограничена. Места обитания полчка в Нижегородском Правобережье Волги сильно раздроблены и в значительной степени утрачены в результате вырубki лесов и сельскохозяйственной деятельности человека.

Исследования проводились в период активного сезона сонь (май-август). Для исследования использовался метод размещения искусственных гнездовых домиков. Район исследования расположен в окрестностях пос. Старая Пустынь Арзамасского района Нижегородской области. Участок липово-дубового леса с примесью хвойных занимает 1/5 км² на верхней террасе р. Серёжа. Дорога с просекой и зрелый хвойный лес по обе ее стороны делят липово-дубовый лес на две части. На разных участках этого широколиственного леса были развешаны более 150 гнездовых домиков с внутренними размерами 13×13×28 см и летком 50 мм. Скворечники размещались на стволах лип и дубов на высоте 2.5 м в местах с наибольшей сомкнутостью крон и высоким проективным покрытием подлеска. Проверки проводились один раз в месяц в течение лета в 2016-2023 годах.

В мае-июне численность полчков была невысокой – от 3 до 8 взрослых особей, так как зиму переносят не все зверьки, кроме того часть летней популяции расселяется по окрестным биотопам. К июлю-августу численность популяции увеличивается за счёт сеголеток. В зависимости от эффективной численности популяции и кормовой базы число отмеченных августовских сеголеток было минимальным в 2017 году – всего 6 особей, в остальные годы число сеголеток изменялось в пределах от 19 до 26 зверьков, в среднем 20 детёнышей. Численность сеголеток в 2-4 раза выше численности взрослых, а максимальное соотношение наблюдалось в 2021 году – 4:1, лишь в 2017 году во время депрессии размножения взрослых было в 2 раза больше молодых. Число выводков во время проверок в августе изменялось от 2 в 2017 году, до 8 в 2021. Размер выводка у полчков исследуемой популяции составляет от 4 до 6 детёнышей, чаще всего 5. Половая структура популяции достаточно стабильна, соотношение взрослых самок и самцов приближается 1:1, лишь в 2017 году самцов было в 4 раза больше, чем самок. Число построенных гнёзд также является показателем благополучия популяции. Количество построенных гнёзд во время проверок в августе было минимальным в 2016 году – 6, максимальным в 2021 году – 35 и 2023 году – 34. Таким образом, устойчивая популяция полчка может стабильно существовать даже в небольшом изолированном фрагменте широколиственного леса.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ РАЗДЕЛЬНЫХ ТИПОВ СЕНСОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДАРОХУЛ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Е. О. Щекутьева¹, М. О. Потуданская¹, Г. А. Бобков^{1, 2}, М. С. Рубель¹

¹Университет ИТМО, Санкт-Петербург, просп. Кронверский, 49;
ekaterina.shchekuteva45@mail.ru

²Институт Общей Генетики им. Н. И. Вавилова РАН, 119333, Москва, ул. Губкина, 3

Развитие рыбоводства в России, особенно в области разведения лососевых рыб, становится ключевым направлением согласно стратегии Правительства РФ от 26 ноября 2019 года. Несмотря на положительные тенденции в индустрии, проблема инфекционных заболеваний остается актуальной и влечет за собой серьезные экономические риски для рыбоводческих хозяйств. В настоящее время для выявления инфекционных заболеваний, вызванных патогенными бактериями, требуется комплекс диагностических методов, однако подтверждение инфекции осуществляется с помощью культурального метода, требующий времени, ресурсов и квалифицированного персонала. Альтернатива – полимеразная цепная реакция (ПЦР), более современный, но дорогостоящий метод, особенно для малых рыбоводческих хозяйств.

Цель данного исследования – разработка быстрого и доступного метода диагностики инфекционных заболеваний лососевых рыб. Предлагается разработать тест-систему, которая будет включать этапы выделения ДНК, изотермическую амплификацию целевого участка гена и детекцию с использованием ДНК-сенсоров на основе раздельного ДНК-аптаметра, связывающего флуоресцирующий субстрат (Дарохул). Для разработки и тестирования метода было выбрано три наиболее распространенных патогена лососевых рыб (*Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophilica* и *Pseudomonas fluorescens*).

Разработанный метод диагностики представит перспективное решение для раннего выявления инфекционных заболеваний лососевых рыб. На данной стадии исследования были достигнуты положительные результаты работы сенсора для детекции *Aeromonas hydrophilica*. Мишенью для детекции является вирулентный синтетический ген, кодирующий токсин аэролизин (aerA). Далее планируется провести эксперименты для обнаружения двух других указанных патогенов, испытать сенсоры на продуктах изотермической амплификации, а также осуществить проверку на ДНК, извлеченной из культуры клеток, без предварительной амплификации.

Авторы исследования благодарны Министерству образования и науки Российской Федерации № FSER-2022-0009.

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА АНАЛИЗА FLIM-ИЗОБРАЖЕНИЙ НА ОСНОВЕ СВЕРТОЧНЫХ НЕЙРОСЕТЕЙ

И. Д. Щечкин^{1,2}, С. А. Родимова¹, Н. В. Бобров^{1,3}, А. М. Можеров¹, Д. С. Кузнецова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
iliahasa1992@gmail.com

²ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Приволжский окружной медицинский центр, 603001, Нижний Новгород, Нижне-Волжская наб., 2

Флуоресцентная время-разрешенная микроскопия FLIM – это метод, позволяющий анализировать времена жизни флуоресценции внутриклеточных эндогенных флуорофоров, в частности никотинамидадениндинуклеотида НАД(Ф)Н. Для описания времен жизни флуоресценции НАД(Ф)Н используется модель, где параметрам a_1 , a_2 и a_3 соответствуют вклады свободной, связанной и фосфорилированной форм НАД(Ф)Н в общее время жизни флуоресценции. Эти параметры связаны с анаэробным гликолизом, окислительным фосфорилированием и синтетической функцией ткани, соответственно. При использовании метода накапливается большое количество изображений, требующих обработки, при этом при ручной обработке, существует высокий вклад человеческого фактора. В связи с этим существует потребность в автоматизации и унификации обработки изображений, что возможно с применением нейронных сетей (НС). Целью работы являлась разработка алгоритма автоматического анализа FLIM-изображений на основе сверточных НС.

Было получено 330 FLIM-изображений печени на разных этапах регенеративного процесса при развитии патологии печени. Для изображений в Fiji (ImageJ) были размечены границы клеток и ядер. Изображения были аугментированы, таким образом было накоплено 988 изображений. В качестве НС была выбрана архитектура Unet++ с использованием многокомпонентной функции потерь, включающей в себя: BCE, Focal и Dice функции потерь.

Набор изображений был использован для обучения НС для выделения границ клеток ($F1 = 0.77$, $AUC = 0.9$) и для определения ядер ($F1 = 0.65$, $AUC = 0.98$). Также были получены маски интенсивности. Предсказания использовались для проведения Instance сегментации. Полученные ROI использовались для расчета затухания флуоресценции на основе экспоненциально модифицированной гауссовой функции поклеточно. Было показано, что автоматическая обработка сопоставима с вариантом ручной обработки для анализа изменения паттернов, а разбросы результатов анализа для автоматической обработки меньше или равны.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-25-00100).

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ ГИДРОПОННЫМ МЕТОДОМ

А. В. Щукина, Н. С. Зиннер, К. В. Тюлькевич, К. Е. Мусабекова

Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36;
anastassyachshukina@mail.ru

В настоящее время, для сохранения биоразнообразия в России, согласно Федеральному закону от 14.04.2023 N 113-ФЗ запрещен сбор и оборот растений, включенных в Красную книгу Российской Федерации. В связи с этим фармкомпании и производители биологически активных добавок вынуждены обращаться к культивированию востребованных редких лекарственных растений. Одним из таких ценных лекарственных растений, находящихся на грани вымирания, является *Rhodiola rosea*, однако имеющиеся на данном этапе технологии ее выращивания требуют высоких затрат ресурсов из-за чего она практически не выращивается в промышленных масштабах. Разработка инновационных методов выращивания *Rhodiola rosea* позволит повысить рентабельность данной культуры для промышленности и сохранить данный вид для будущих поколений.

Целью исследования являлась оценка возможности культивирования *Rhodiola rosea* методом аэро-гидропоники, с использованием готовых питательных растворов российского производства.

Исследование проводилось с использованием семян *Rhodiola rosea* собственных репродукций СибБС ТГУ, аэро-гидропонной установки замкнутого типа «Здоровья клад», семи готовых питательных растворов двух марок российского производства: Simplex (hydro vega, hydro bloom) и Ситифермер (ягоды, зелень, цветы, плоды, микрозелень и салаты). Всхожесть определяли на шестой день, по результатам которой отмечено положительное влияние питательных растворов hydro bloom (75%), зелень (75%), цветы (75%), микрозелень и салаты (70%). Контрольные морфометрические показатели определяли на 34-й день. У рассады, растущей на питательных растворах hydro bloom, микрозелень и салаты наблюдалась этиоляция. В вариантах опыта с применением hydro bloom, ягоды, цветы наблюдалось неинфекционное хлорозное поражение ростков *Rhodiola rosea*. В варианте с применением питательного раствора плоды, отмечена гибель ростков вследствие засоления. По результатам исследования в качестве перспективного питательного раствора для культивирования *Rhodiola rosea*, по совокупности показателей, выделены питательные растворы марки ситифермер: зелень, микрозелень и салаты. Однако следует учитывать, что данная культура является лекарственным растением, ценность которого определяется накоплением биологически активных веществ, в связи с чем необходимо дополнить исследование проведением химических анализов сырья.

АСТРОЦИТАРНО-ИНДУЦИРОВАННАЯ ПЕРЕМЕЖАЮЩАЯСЯ СИНХРОНИЗАЦИЯ НЕЙРОНОВ В МАЛЫХ АНСАМБЛЯХ

Д. Д. Яблонский, С. Ю. Маковкин

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ya.straus17@yandex.ru

В работе исследуется влияние астроцитарной связи на синхронизацию в мультиплексном нейрон-астроцитарном ансамбле, в биологоправдоподобных живых системах. В данном исследовании используются физиологически значимые модели нейрона Ходжкина-Хаксли-Мэйнена и астроцита Уллаха-Юнга для исследования влияния астроцита на динамику пары синаптически связанных импульсных нейронов. В работе обнаружено, что импульсная активность в нейронах индуцирует медленную колебательную активность в астроцитах, что, в свою очередь, модулирует силу синаптической связи. Это приводит к новому режиму перемежаемой синхронизации между импульсными нейронами в масштабе времени медленных кальциевых колебаний.

Управляющий нейрон может воздействовать на управляемый либо возбуждающей, либо тормозной связью. Область синхронизации не является симметричной. Главный нейрон с более высокой частотой колебаний, через возбуждающую однонаправленную импульсную связь, увеличивает частоту срабатывания подчиненного нейрона, и, соответственно наоборот для тормозящей связи.

Астроцитарная модуляция синаптической связи нейронов улучшает синхронизацию между колеблющимися нейронами. Влияние астроцитов на динамику пары связанных нейронов заключается в стимуляции синхронизации колебательной активности нейронов за счет управляемого астроцитами увеличения нейронной синаптической силы связи. Для двух изолированных астроцитов в системе рассчитан регион синхронизации.

Первоначально колебания нейронов вызывают колебания кальция в астроците. При достижении порога внутриклеточной концентрации ионов кальция, астроцит усиливает синаптическую силу связи между нейронами, и они синхронизируются в противофазе на интервале времени равном длительности импульсов кальция в астроците. В отсутствие астроцитарного воздействия система проявляет биения из-за расстройки частоты между связанными осцилляторами.

В результате исследования получены следующие результаты: (i) Астроцитарная модуляция синаптической связи нейронов улучшает синхронизацию между осциллирующими нейронами; (ii) Влияние астроцитов на динамику пары связанных нейронов заключается в стимуляции синхронизации колебательной активности нейронов за счет управляемого астроцитами увеличения нейронной синаптической силы связи; (iii) С увеличением частотной расстройки между нейронами, требуется бо́льшая сила связи, на то, чтобы установить синхронизацию и при возбуждающей, и при тормозной синаптической нейронной связи; (iv) Вызванная астроцитами модуляция синаптической связи расширяет полосу синхронизации. Интервал синхронизации расширяется примерно до половины времени наблюдения.

ВАЖНОСТЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КРЕМНИЯ В ФОРМИРОВАНИИ ПОЧВЕННОГО ПЛОДОРОДИЯ

А. С. Яковлев

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пущино
Московской обл., просп. Науки, 3;
novocheboksarec@yandex.ru

Применении синтетических минеральных удобрений, приводит к деградации почв и снижению качества получаемой продукции. Применение диатомита, компоста и микроорганизмов обеспечивает увеличение урожая, улучшение качества овощей и повышение уровня плодородия почв. Цель: сравнение систем, основанных на использовании традиционных минеральных удобрений и природных, экологически чистых соединений, при выращивании в теплице.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ. Vegetационные эксперименты в теплице с внесением в почву минеральных удобрений и разработанной смеси природных соединений, куриного компоста, кремниевого удобрения, микробного препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Применение компоста позволило получить более высокий урожай, но увеличение было незначимым. Внесение только диатомитов или микроорганизмов увеличило урожайность в меньшей степени по сравнению с минеральными удобрениями. Максимальная урожайность наблюдалась при комбинированном использовании компоста, активированного диатомита и микроорганизмов.

При внесении диатомитов и микроорганизмов содержание нитратов в овощах уменьшилось.

Применение синтетических удобрений привели к снижению содержания углеводов. Внесение кремнийсодержащих препаратов существенно повысило содержание углеводов в плодах. Максимальное увеличение содержания углеводов было при комплексном внесении экологически чистых препаратов.

Применение минеральных удобрений приводило к незначительному снижению емкости катионного обмена. Использование компоста и диатомитов повысило этот показатель. Внесение микроорганизмов не влияло на емкость катионного обмена. Применение традиционных минеральных удобрений обеспечило увеличение урожайности, при снижении качества продукции и ухудшении показателей плодородия почв. Природные и экологически безопасные соединения обеспечили увеличение урожайности исследуемых культур в большей мере, чем минеральные удобрения, при этом способствовали повышению качества овощей и плодородия почв.

ВЫВОДЫ

- 1) использование синтетических удобрений позволяет повысить урожайность, но приводит к снижению качества продукции и к деградации почвенного плодородия;
- 2) органическое вещество, активные формы кремния и почвенные микроорганизмы могут служить основными составляющими экологически чистых препаратов для обеспечения высокого урожая, его качества и сохранения плодородия почв

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ЗАВИСИМОСТИ ПРИ ИНТРОДУКЦИИ АССОЦИАТИВНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ В РИЗОСФЕРУ *ORYZA SATIVA* L.

А. И. Якубовская¹, И. А. Каменева¹, М. В. Гритчин¹, Я. В. Пухальский²

¹Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, 295043, Симферополь Респ. Крым, ул. Киевская, 150;

yakubovskaya_alla@mail.ru

²Ленинградский государственный университет имени А.С. Пушкина, 196605, Санкт-Петербург, Пушкин Ленинградской обл., Петербургское шоссе, 10

Известно, ризосферная микробиота оказывает существенное влияние на рост и развитие растений, а в последствие на урожай. Раскрыть потенциал растительно-микробного взаимодействия и его управления возможно путем изучения степеней связи микробиологических и биохимических факторов между собой.

Цель – выявить корреляционные связи между биологическими показателями ризосферы и урожайностью растений риса при интродукции ассоциативных штаммов бактерий в ризосферу *Oryza sativa* L.

Инокуляция семян ассоциативными штаммами бактерий перед посевом положительно влияет на ростовые процессы растений и усиливает биологическую активность в ризосфере риса: дыхание в 2-4 раза, каталазу на 12,3-101,5% в сравнении с контролем; увеличивается численность определенных эколого-трофических групп микроорганизмов. Установлена положительная корреляция между численностью фосфатмобилизаторов в ризосфере и урожайностью риса, как в фазу цветения, так и в фазу дозревания растений ($r = 0,8$). В самую активную фазу вегетации культуры – цветение, установлена высокая степень корреляции ($r = 0,8-0,9$) между каталазной и нитрогеназной активностью, эмиссией углекислого газа, численностью целлюлозоразрушающих и фосфатмобилизирующих микроорганизмов в ризосфере.

Таким образом, установлен высокий уровень корреляции между исследуемыми показателями биологической активности в ризосфере риса при интродукции штаммов ассоциативных бактерий, что позволяет предположить о биостимуляции микробиологических процессов. Такой агротехнологический прием повышает биологическую продуктивность риса и обеспечивает прибавку урожая на 2,8-6,4 т/га (34,8-69,6%).

БИОСИСТЕМЫ:
организация, поведение, управление

77-я Международная школа-конференция молодых ученых

15-19 апреля 2024 г.

Нижний Новгород

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Техническая редакция и компьютерная верстка: Сергеева М.А.

Художник: Пчёлкин Е.В.