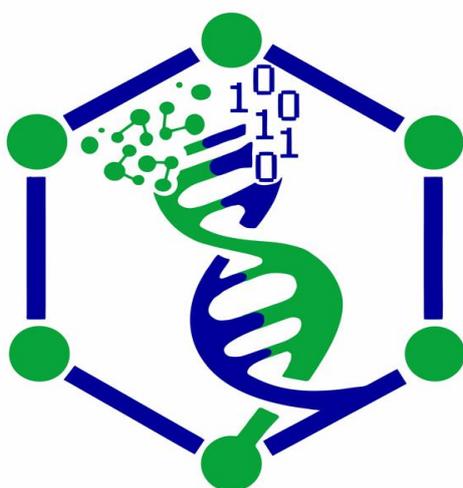


Министерство образования и науки Российской Федерации
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
Институт биологии и биомедицины



**«Биосистемы: организация, поведение, управление»
69-я Всероссийская школа-конференция
молодых ученых**

*Тезисы докладов
(Нижний Новгород, 27–29 апреля 2016 г.)*



Нижний Новгород

2016

УДК 573.6(063); 61:004(063)
ББК Е.с21я431
Б 63

Б 63 Биосистемы: организация, поведение и управление: Тезисы докладов 69-й Всероссийской школы-конференции молодых ученых (Н. Новгород, 27–29 апреля 2016 г.). Н. Новгород, Университет Лобачевского. 2016. 190 с.

Тезисы докладов 69-й школы-конференции молодых ученых, посвященной 100-летию Университета Лобачевского и биологического факультета (ИББМ), охватывают широкий спектр направлений современной биологии: биоразнообразие и проблемы его сохранения, биологический мониторинг, биоиндикацию и биотестирование, физиологию растений, микробиологию, физиологию человека и животных, биомедицину, молекулярную биологию, биохимию, биофизику, биотехнологии, нейротехнологии, нанобиотехнологии, историю биологии и биоэтику. Основной целью конференции является привлечение студентов и аспирантов к исследовательской и проектной деятельности в научно-технической сфере.

Проведение школы-конференции поддержано Правительством Российской Федерации в рамках грантов для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых, договоры 14.Z50.31.0022 и 14.Z50.31.0008.

ББК Е.с21я431
УДК 573.6(063); 61:004(063)

© Нижегородский госуниверситет
им. Н.И. Лобачевского, 2016

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Е. В. Чупрунов председатель оргкомитета, ректор ННГУ профессор, д.ф.-м.н.
М. В. Ведунова заместитель председателя, д.б.н.
В. А. Воденеев заместитель председателя, д.б.н.

И. В. Балалаева (к.б.н.), Е. В. Большакова, А. П. Веселов (проф., д.б.н.), А. В. Дерюгина (д.б.н.),
А. А. Досаева, В. А. Зрянин (к.б.н.), В. Б. Казанцев (д.ф.-м.н.), А. Ю. Корнилов, Д. М.
Кузьмина, И. С. Макеев (к.б.н.), Е. О. Половинкина (к.б.н.), Ю. В. Сеницына (к.б.н.), В. В.
Сырова (к.б.н.), М. Н. Таламанова (к.б.н.), Ю. Е. Францева (к.п.н.)

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

М. В. Ведунова (д.б.н., ННГУ), А. П. Веселов (проф., д.б.н., ННГУ), В. А. Воденеев (д.б.н.,
ННГУ), О. Л. Воскресенская (проф., д.б.н., МарГУ), Д. Б. Гелашвили (проф., д.б.н., ННГУ), С.
В. Гудков (д.б.н., ИТЭБ РАН), А. В. Дерюгина (д.б.н., ННГУ), Е. В. Загайнова (д.м.н.,
НиЖГМА), В. А. Зрянин (к.б.н., ННГУ), В. Б. Казанцев (д.ф.-м.н., ННГУ), В. Н. Крылов (проф.,
д.б.н., ННГУ), А. С. Лукаткин (проф., д.б.н., МГУ им. Н.П. Огарева), И. В. Мухина (д.б.н.,
НиЖГМА), В. В. Новиков (проф., д.б.н., ННГУ), А. Г. Охалкин (проф., д.б.н., ННГУ), Р. М.
Сабиров (к.б.н., КФУ), А. В. Семьянов (д.б.н., ННГУ), А. И. Широков (к.б.н., ННГУ)

АДАПТАЦИЯ МЕТОДА МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА

***Б. Ж. Абогессименгане^{1*}, И. Хамрауї¹, Р. Д. Лапшин², И. И. Белоусова²,
Т. А. Астраханова¹, И. В. Мухина^{1, 2}, М. В. Ведунова^{1, 2}***

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
bettinazoo@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 70

Ишемия головного мозга – это состояние, которое развивается в ответ на кислородное голодание вследствие недостаточного мозгового кровообращения, один из видов дисфункции головного мозга, которая развивается при целом ряде заболеваний человека. Признаками заболевания могут быть резкое ухудшение памяти и неврологического статуса, неспособность к обучению, нестабильный эмоциональный фон. В связи с этим разработка адекватных моделей экспериментальной ишемии на лабораторных животных является чрезвычайно актуальной проблемой. В настоящее время существует несколько способов моделирования ишемии головного мозга (остановка сердца, окклюзия сосудов, тромбоэмболия, фотоиндуцированный тромбоз и т.д.), нами была выбрана модель ишемии головного мозга, вызванная окклюзией кровоснабжающих сосудов головного мозга. Разработка подобной модели для мышей позволит в дальнейшем оценить эффект применения большого количества веществ, предположительно обладающих нейропротективным, антигипоксическим и репарационным эффектами. В связи с этим целью исследования явилась разработка модели ишемии головного мозга на мышах, для дальнейшего поиска веществ, способных к коррекции неврологических и когнитивных нарушений.

В качестве объекта исследования были использованы самцы и самки (вес 30–50 г) белых беспородных мышей, находящихся в стандартных условиях вивария (групповое содержание, неограниченный доступ к воде и пище). Модель ишемии воспроизводилась путем клипирования обеих сонных артерий, затем клипсы удаляли. Оперативное вмешательство проводили с применением наркоза – нембутала (67,5 мг/кг). Для исключения влияния суточных ритмов эксперимент осуществлялся в одно и то же время суток. Для подбора оптимального времени окклюзии и экспозиции сонных артерий было проведено несколько последовательных серий экспериментов. Изначально были выбраны периоды односторонней и двусторонней окклюзии 60, 45, 30 и 15 минут.

Оптимальным временем воздействия, при котором были выявлены достоверные изменения неврологического статуса и высокая выживаемость является 15-минутная окклюзия обеих сонных артерий. В ходе проведенных экспериментов установлено, что адаптируемая модель ишемии головного мозга дает стойкие нарушения неврологического статуса, процент преимпульсного ингибирования и увеличение смертности, установлено что неврологический дефицит на четвертый день достигает 14 баллов, а с седьмого дня уже возвращается в норму 17,5 баллов. Процент преимпульсного ингибирования достигает 3,64%, хотя первоначально составлял 27,10%. Смертность животных достигает 40,71 %.

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

ФЕНОЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ КАЛЛУСОВ РАСТЕНИЙ *OXYCOCCUS MACROCARPUS* И *VACCINIUM ANGUSTIFOLIUM*

М. Н. Агеева, Е. В. Березина, А. А. Брилкина, Л. В. Криволапова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ageyevamaria@gmail.com

Культуры клеток растений являются перспективным материалом для промышленного получения биологически активных веществ. Растения семейства вересковые, в частности клюква крупноплодная (*Oxycoccus macrocarpus*) и голубика щитковая (*Vaccinium angustifolium*), богаты фенольными соединениями, которые находят широкое применение в практической деятельности человека. Целью работы стал анализ фенольного профиля каллусов растений клюквы крупноплодной и голубики узколистной.

Для индукции каллусообразования использовали поврежденные листья микрорастений, культивируемых *in vitro*. Каллусогенез растений клюквы крупноплодной проводили на среде Андерсона, голубики узколистной – на среде WPM. Используемые среды содержали ауксины (НУК [α -нафтилуксусная кислота]) и цитокинины (6-БАП [6-бензиламинопурин] или кинетин [6-фурфуриламинопурин]) в концентрации 0,5 мг/л и 0,5 мг/л, соответственно. Клеточные культуры выращивали на данных средах в условиях темноты и света. Содержание суммы растворимых фенольных соединений (СРФС), флавоноидов и катехинов определяли спектрофотометрически (UV-1700 [Shimadzu]) после 8 недель культивирования.

Наибольшее содержание СРФС в каллусах клюквы (12,8 мг/г сырой массы здесь и далее) и голубики (21,6 мг/г) отмечено у клеточных культур, полученных на средах с НУК/6-БАП на свету. Эти же культуры синтезировали наибольшее количество флавоноидов (15,3 и 11,0 мг/г, соответственно). Диапазон содержания катехинов в каллусах клюквы крупноплодной и голубики узколистной составил 1,2–6,0 мг/г в темноте и 2,8–7,3 мг/г на свету.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о сходстве фенольного метаболизма на ранних этапах культивирования каллусов растений клюквы крупноплодной и голубики узколистной на средах, дополненных НУК/6-БАП, на свету. Максимальное содержание исследуемых метаболитов соответствует значениям, полученным для ягод указанных видов семейства вересковые.

Исследование выполнено при частичной поддержке РФФИ в рамках научного проекта №16-34-00529 мол_а.

СОЧЕТАННОЕ АПОПТОЗИНДУЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БИНАЗЫ И ДОКСОРУБИЦИНА НА КЛЕТКИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ

А. И. Амутбаева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань ул. Кремлевская, 18;
luntik051995@gmail.com

Онкологические заболевания являются одной из главных проблем современной медицины. Злокачественные опухоли забирают миллионы жизней ежегодно, и считаются одной из самых распространенных причин смерти, а значит поиск новых методов в терапии онкологических заболеваний достаточно актуален. В качестве потенциальных агентов противоопухолевой терапии рассматривают рибонуклеазы (РНказы) различного происхождения, например, гуанил-специфическую РНказу *Bacillus pumilus* – биназу, для которой показано избирательное цитотоксическое и апоптозиндуцирующее действие на злокачественные клетки различных типов. Особое внимание РНказам уделяют как возможным компонентам комбинированной (сочетанной) терапии опухолей, где они применяются в комплексе с другими препаратами, в том числе классическими цитостатиками. Целью нашего исследования явилась оценка сочетанного апоптозиндуцирующего действия биназы и доксорубицина на клетки аденокарциномы легких человека А549.

Клетки А549 культивировали в 24-луночных планшетах на среде RPMI-1640 с добавлением 10% фетальной сыворотки телят, 2 мМ глутамина, по 100 ед./мл пенициллина и стрептомицина в атмосфере 5% CO₂. Начальная концентрация клеток составляла 10⁵ клеток/лунку. Через сутки после посева заменяли среду в лунках на свежую с добавлением действующих веществ: биназы (100 мкг/мл и 300 мкг/мл), доксорубицина (5 мкг/мл и 10 мкг/мл), а также их сочетаний. Апоптозиндуцирующее действие препаратов детектировали через 24 ч после окрашивания красителями DIOC₆ и PI на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II.

Биназа при монообработке проявила незначительную цитотоксичность по отношению к клеткам А549. Доля жизнеспособных клеток составила 89±2% и 91±1% для концентраций биназы 300 мкг/мл и 100 мкг/мл, соответственно, в то время как в варианте без обработки препаратами значение данного показателя составило 94±2%. Чувствительность клеток к доксорубицину была выше: доля жизнеспособных клеток в популяции составила 90±5% и 43±3% для концентраций антибиотика 5 мкг/мл и 10 мкг/мл, соответственно. Достоверное сочетанное действие биназы и доксорубицина проявилось в варианте с использованием максимальных концентраций тестируемых агентов. Доля жизнеспособных клеток А549 в присутствии 300 мкг/мл биназы и 10 мкг/мл доксорубицина составила лишь 26±8%.

Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность использования биназы как компонента комбинированной терапии раковых заболеваний, в частности, злокачественных новообразований легких.

РАЗРАБОТКА HER2-СПЕЦИФИЧНОГО ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭКЗОТОКСИНА А

Н. О. Антонова¹, *Е. Л. Гурьев¹*, *А. А. Третьяков¹*, *А. В. Юдинцев¹*, *В. А. Воденев¹*,
И. В. Балалаева¹, *С. М. Деев^{1, 2}*, *А. В. Звягин^{1, 3}*

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Antonova-bio@yandex.ru

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

³Macquarie University, 2109, Australia, Balaclava Road, North Ryde NSW

Создание новых противоопухолевых препаратов является актуальной задачей биомедицинской науки. Основным недостатком большинства современных противоопухолевых препаратов является отсутствие специфичности действия и высокая токсичность в отношении здоровых тканей и органов, поэтому исследования, связанные с разработкой способов направленной доставки терапевтических агентов в опухоль, обладают высокой актуальностью.

Целью данной работы было создание липосомального HER2-специфичного препарата рекомбинантного бактериального экзотоксина А (ETA). Основой препарата служили однослойные липосомы, которые получали методом экструзии смеси природных фосфолипидов через поликарбонатный фильтр с размером пор 100 нм. Дополнительно в состав липосом были включены конъюгаты фосфатидилэтаноламина (ФЭ) с полиэтиленгликолем-2000 и родамином для экранирования, визуализации и количественной оценки содержания липосом в суспензии. Загрузка рекомбинантного ETA в липосомы производилась на стадии получения перед экструзией (при гидратировании липидной пленки раствором белка в PBS). Липосомы очищали от незагруженного белка методом гель-фильтрации.

В качестве направляющего агента использовали пептид неиммуноглобулиновой природы DARPin9-29, способный высокоаффинно связываться с рецептором HER2, экспрессия которого на поверхности клеток характерна для многих видов опухолей. Конъюгацию липосом с DARPin9-29 осуществляли путем реакции с карбодиимидом – линкером нулевой длины. Разделение конъюгатов и несвязавшегося белка осуществляли гель-фильтрацией.

Эффективность связывания конъюгатов с поверхностью клеток SKBR3 (аденокарцинома молочной железы человека), гиперэкспрессирующих рецептор HER2, и HER2-негативными клетками CHO (клетки яичника китайского хомячка) оценивали методом конфокальной микроскопии. Продемонстрировано селективное связывание липосом, конъюгированных с DARPin9-29, с клетками SKBR3. Оценка относительной жизнеспособности клеток в культуре показала, что ETA в липосомальной форме снижает жизнеспособность клеток SKBR3 в значительно большей степени, чем клеток CHO.

Полученный препарат обладает рядом преимуществ. В частности, малый размер липосом и экранирование их поверхности полиэтиленгликолем позволит существенно увеличить время циркулирования препарата в кровяном русле. В то же время, наличие направляющего модуля будет обеспечивать высокую избирательность доставки ETA в опухолевые клетки. Присутствие в составе липосом конъюгата ФЭ с родамином позволит использовать данный препарат для визуализации опухолевых тканей методами флуоресцентного имиджинга в диагностических целях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (договор № 14.Z50.31.0022, соглашение RFMEFI57814X0030).

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СНЕГОВОГО ПОКРОВА ГОРОДА САМАРЫ

О. В. Антонова, Н. В. Прохорова

Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева,
443001, Самара, ул. Молодогвардейская, 151; *glyshkova9@mail.ru*

Экологические особенности городской среды во многом определяют техногенные нагрузки. Механическим и геохимическим барьером на пути аэрогенных потоков техногенных веществ являются такие накопительные среды как снеговой и почвенный покровы. Для почв аэрогенные потоки загрязнителей не являются единственными, существенная доля может поступать в почву из снеготалых вод, при внутрпочвенном и поверхностном стоке загрязненных вод и другими путями. Для Самары проблема загрязнения снежного покрова и оценка его участия в загрязнении почв слабо разработана и касается только аккумуляции тяжелых металлов снегом в городских парках. Наши исследования представляют собой первый опыт использования экспресс-методики комплексной оценки антропогенного загрязнения снега в городской среде, которая изначально была разработана Е. Д. Добротиной и Ш. Б. Тешебаевой (2009) для почвенного покрова Арктики. Степень и характер антропогенной нагрузки оценивается по содержанию в почвенной вытяжке органических веществ, определяемых по совокупности тестов с диазотированной сульфаниловой кислотой и раствором нингидрина.

Отбор образцов снега для анализа осуществляли на пяти экологически контрастных территориях. В Самаре было заложено четыре пробные площади, три из них в Безымянской промзоне (проспект Кирова, промзона на берегу реки Самары, сквер Калинина) и одна в Загородном парке в Октябрьском районе города. В качестве контроля использовали снег, отобранный в сосновом бору на берегу р. Кондурчи в Красноярском районе Самарской области. Все образцы снега отбирали 1 марта 2015 г. Отбор осуществляли по общепринятой методике на всю толщу снегового покрова. Отобранный снег помещали в чистые полиэтиленовые емкости, в которых происходило таяние снега, а затем хранилась талая вода.

Использованный нами метод выявляет количественные и качественные характеристики антропогенной нагрузки по наличию в почве, либо в воде органических веществ, как промышленного происхождения (нефтепродукты, фенолы, амины), так и продуктов метаболизма человека и животных. Анализ полученных результатов основан на сходстве и различии реакции азосочетания и реакции с нингидрином. Диазотированная сульфаниловая кислота взаимодействует с ароматическими аминами, фенолами, протопорфиринами и некоторыми азотистыми гетероциклами, образуя окрашенные азокрасители. Нингидрин дает окрашенные соединения с аммиаком, алифатическими, алициклическими первичными аминами и применяется в качестве группового локализирующего агента на аминокислоты и пептиды. Если реакция азосочетания показывает более интенсивное загрязнение, чем нингидриновая, то загрязнение следует считать техногенным, если результаты равны, то доминирует антропогенное (биологическое) загрязнение.

Апробирование методики и полученные при этом результаты подтвердили возможность ее использования для оценки загрязнения снегового покрова, а также позволили сделать вывод, что загрязнение снега на всех изученных пробных площадях в Самаре имеет техногенное происхождение. Компоненты антропогенного (биологического) загрязнения метаболитами человека и животных также присутствовали в исследуемых образцах снеговой воды, но их концентрация была существенно ниже (на уровне следовых количеств) содержания органических веществ техногенного происхождения.

SPATIAL PATTERNS AND CELL SURFACE CLUSTERS IN PERINEURONAL NETS
ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ МОДЕЛИ И КЛАСТЕРЫ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ В
ПЕРИНЕЙРОННЫХ СЕТЯХ

***N. Arnst^{1, 2}, S. Kuznetsova², N. Lipachev², N. Shaikhutdinov², A. Melnikova², M. Mavlikeev²,
T. V. Baltina², H. Rauvala¹, Yu. N. Osin², A. P. Kiyasov², M. Paveliev¹***

*Н. Арнст, С. Кузнецова, Н. Липачев, Н. Шайхутдинов, А. Мельникова, М. Мавликеев,
Т. В. Балтина, Х. Раувала, Ю. Н. Осин, А. П. Киясов, М. Павелиев*

¹Neuroscience Center, University of Helsinki, Finland

²Kazan Federal University, Russia; *arnst.nikita@yandex.ru*

Perineuronal nets (PNN) ensheath GABAergic and glutamatergic synapses on neuronal cell surface in the central nervous system (CNS) have neuroprotective effect in animal models of Alzheimer disease and regulate synaptic plasticity during development and regeneration. Crucial insights were obtained recently concerning molecular composition and physiological importance of PNN but the ultrastructure of the network remains largely unstudied. Here we used histochemistry, fluorescent microscopy and quantitative image analysis to study the PNN structure in adult mouse and rat neurons from layers IV and VI of the somatosensory cortex. Vast majority of meshes have quadrangle, pentagon or hexagon shape with mean mesh area of 1,33 μm^2 in mouse and 1,48 μm^2 in rat neurons. We demonstrate two distinct patterns of chondroitin sulfate distribution within a single mesh – with uniform (nonpolar) and node-enriched (polar) distribution of the wisteria floribunda agglutinin-positive signal. The uniform pattern prevails on cell bodies while the node-enriched pattern occurs more often on proximal dendrites. PNN is organized into clusters of meshes with distinct morphologies on the neuronal cell surface. Our findings suggest the role for the PNN ultrastructure in the synaptic transduction and plasticity.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ 2-СЕЛЕНИЛ-1-ПИРИДИН-1-ОКСИДА И СОЕДИНЕНИЙ НА ЕГО ОСНОВЕ

М. М. Артемьева, С. А. Залепкина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *biodeg@mail.ru*

В настоящее время изучение биологической активности селеносодержащих органических соединений представляет собой актуальную задачу, как для прикладных, так и для теоретических исследований. Известно, что многие селеносодержащие гетероциклические соединения играют важную роль в метаболизме живых организмов (так как могут обладать антиоксидантными, нейропротекторными, противораковыми свойствами и т.д.). Так же установлено, что многие селеносодержащие гетероциклические соединения обладают антимикробной (фунгицидной и бактерицидной) активностью. Однако, на сегодняшний день недостаточно известно о токсичности органических соединений селена для различных живых организмов, особенно для микроорганизмов.

В связи с этим, нами проведено исследование биоцидной (фунгицидной и бактерицидной) активности 2-селанил-1-пиридин-1-оксид, а также новых соединений полученных на его основе: 2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенида, бис(2-селен-N-оксипиридин)цинка(II), бис(2-селен-N-оксипиридин)меди(II), бис(2-селен-N-оксипиридин)кадмия(II). В качестве тест организмов были выбраны штаммы микроскопических грибов (активных деструкторов промышленных и строительных материалов): *Alternaria alternata*, *Penicillium cyclopium*, *P. chrysogenum*, *Aspergillus oryzae*, *A. terreus*, *A. niger*, а также бактерии *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Исследование показателей фунгицидности и бактерицидности выполнялось диско-диффузионным методом. Фунгицидная и бактерицидная активность оценивалась на основе минимальной ингибирующей концентрации (МИК) в процентах.

Анализ результатов показал, что биоцидная активность всех производных селанил-1-пиридин-1-оксида превосходит активность исходного соединения, а также серосодержащих аналогов данного соединения. Среди исследуемых соединений наибольшей фунгицидной активностью обладал 2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенид, а наибольший бактерицидный эффект проявил бис(2-селен-N-оксипиридин)кадмий(II). Средняя МИК 2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенида в отношении исследуемых культур грибов составила 0,15%. Из используемых в работе микроскопических грибов наиболее чувствительным к данному соединению оказался *A. alternata*, а наименее подвержен действию данного вещества – *A. oryzae*. Среди всех исследуемых соединений наибольший бактерицидный эффект проявлял бис(2-селен-N-оксипиридин)кадмий(II). МИК данного соединения для используемых в работе бактерий составила 0,1%. Наибольшую чувствительность к данному соединению проявила *E. coli*, а наиболее устойчивым оказался *P. aeruginosa*.

Анализ полученных результатов, позволяет сделать вывод о том, что исследуемые нами селеносодержащие соединения обладают большим потенциалом для использования в качестве биоцидных соединений. Установлено, что, изменяя структуру данных соединений, можно регулировать их биоцидную активность, повышая или снижая их фунгицидное и бактерицидное действие.

Учитывая бактерицидную и фунгицидную активность этих селеносодержащих гетероциклических соединений, последние можно рекомендовать в качестве средств защиты промышленных и строительных материалов от микробиологических повреждений и разрушений.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЕМ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ

Е. В. Архипова, И. П. Иванова

Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
arhipova@nnovgorod.ru

Излучение газоразрядной плазмы является источником радикальных продуктов, оказывающих бактерицидный, цитотоксический и другие биомедицинские эффекты. В предыдущих исследованиях проведен детальный анализ продуктов, образующихся в газовой и жидкой фазе разряда. Активные частицы взаимодействуют с растворенными веществами в тонком поверхностном слое и распространяются за счет диффузии и под действием электрического поля, создаваемого током разряда. Радикальные продукты участвуют во многих метаболических процессах в клетке, а поддержание баланса процессов перекисного окисления различных субстратов является важным фактором метаболической активности клетки. Одним из признаков окислительного стресса является накопление первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Поэтому исследование влияния излучения газоразрядной плазмы на ПОЛ перитонеальных макрофагов является актуальным.

Эксперименты проведены *in vitro*. Объектом исследования являлись перитонеальные макрофаги крыс. Суспензию макрофагов получали через 20 мин после внутрибрюшинного введения стерильного физиологического раствора. Излучение низкотемпературной плазмы искрового разряда генерировалось с помощью экспериментального устройства ПИЛИМИН серии ИР-10 с заданными параметрами: длительность импульса 100 мкс, длительность переднего фронта 50 нс, напряжение источника питания 11 кВ, емкость импульсного конденсатора 3,3 нФ, энергия импульса $5,9 \cdot 10^{-2}$ Дж, частота 10 Гц, балластное сопротивление 10 МОм (разработано в НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцына МГУ им. М.В. Ломоносова в 2011 г.). Суспензию перитонеальных макрофагов обрабатывали в течение 30, 60, 300, 600 и 1200 секунд. Контролем служили клетки, не подвергавшиеся воздействию. Рабочая концентрация клеток $4 \cdot 10^6$. Экстракцию и очистку липидов проводили по методу Folch. Об изменении интенсивности ПОЛ судили по накоплению молекулярных продуктов: диеновых конъюгатов (ДК) – 233 нм, триеновых конъюгатов (ТК) – 275 нм, малонового диальдегида (МДА) – 532 и 580 нм, и индексу окисленности – 215 нм. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Excel и Statistica 10.0. Достоверность различий определяли по критерию Манна-Уитни. Две выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при $p < 0,05$.

В эксперименте установлено что концентрация ДК – первичных продуктов ПОЛ, статистически значимо снижается при выбранных режимах воздействия на 33,7–44,9% по сравнению с контрольной группой. Наблюдается тенденция к снижению ТК после воздействия плазмой искрового разряда. Статистически значимо снижается количество низкомолекулярных неокисленных продуктов при обработке длительностью 600 и 1200 сек. с $0,113 \pm 0,019$ до $0,075 \pm 0,019$ и $0,080 \pm 0,019$ соответственно. Показателем образования вторичных продуктов ПОЛ является накопление МДА. Установлено статистически значимое снижение концентрации МДА после воздействия в течение 60 сек. с $4,05 \pm 0,60$ до $3,08 \pm 0,54$. При режимах воздействия 600 и 1200 сек. наблюдается увеличение количества МДА до $5,30 \pm 0,74$ и $5,23 \pm 0,51$ соответственно.

Таким образом показано, что после воздействия излучением импульсной газоразрядной плазмы на суспензию перитонеальных макрофагов не активируются процессы ПОЛ. Повидимому, в окислительной модификации мембранных структур макрофагов свободнорадикальные реакции играют второстепенную роль.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СКОРОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА МИТОХОНДРИЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ОККЛЮЗИИ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Т. А. Астраханова¹, Б. Ж. Абогессименгане¹, И. Хамрауй¹, П. В. Пчелин¹,
Н. А. Щелчкова^{1, 2}, Р. Д. Лапшин², И. В. Мухина^{1, 2}, М. В. Ведунова^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
astrahanova.tatyana@yandex.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 70

Ишемия представляет собой местное снижение кровоснабжения, в основе которого лежит ограничение или полное прекращение притока артериальной крови. Нарушения кровоснабжения, в частности головного мозга, ведут к функциональным и морфологическим изменениям, обуславливающим развитие различных патологий, в том числе нейродегенеративных заболеваний. К одному из основных механизмов развития повреждений головного мозга после воздействия ишемии относят дисфункцию митохондрий, а именно изменение скорости потребления кислорода митохондриями. Оценка скорости потребления кислорода митохондриями является важнейшим показателем функционального состояния данной органеллы, так как зависит не только от количества митохондрий, но и состояния ферментов дыхательной цепи. В этой связи митохондрии рассматриваются в качестве одного из важнейших участников адаптации при ишемических повреждениях головного мозга и требуют более детального изучения. Целью исследования явилось изучение скорости потребления кислорода митохондриями при моделировании ишемии мозга.

В качестве объекта исследования были использованы самцы (вес 32–37 г) белых беспородных мышей. Моделирование ишемии осуществлялось пережатием сонных артерий при помощи наложения лигатур на 15 мин. Выделение митохондрий проводили методом стандартного дифференциального центрифугирования. Скорость дыхания митохондрий мозга регистрировали при помощи респирометра высокого разрешения Oroboros Oxygraph-2k (Австрия).

В ходе проведенных исследований установлено, что скорость потребления кислорода митохондриями в контрольной группе составила 67,6 pmol/(s·ml). В результате перенесенной ишемии скорость потребления кислорода митохондриями в отдаленный период (после 10 суток) достоверно выросла в 2,4 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Это может служить доказательством постишемической адаптации в долгосрочном периоде, когда запускаются компенсаторные реакции, увеличивается число митохондрий и осуществляется синтез белков *denovo*. При моделировании ишемии скорость потребления кислорода митохондриями достоверно снизилась в 2,1 раза по сравнению с контрольной группой, что подтверждается литературными данными. При 15-минутном восстановлении кровоснабжения скорость потребления кислорода митохондриями увеличилась в 2,2 раза относительно контроля, что, вероятно, обусловлено адаптивными внутриклеточными сигнальными каскадами.

Таким образом, митохондрии, являясь одним из регуляторов энергетического метаболизма, играют важную роль в ответе на ишемические воздействия, а регистрация изменения скорости потребления кислорода позволит более детально изучить патологические изменения для дальнейшего поиска способов их коррекции.

СРОКИ НАЧАЛА РАЗМНОЖЕНИЯ И ВЕЛИЧИНА КЛАДКИ МУХОЛОВКИ-ПЕСТРУШКИ (*FICEDULA HYPOLEUCA*) В ИСКУССТВЕННЫХ ГНЕЗДОВЬЯХ В ХВОЙНО-ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСАХ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

С. А. Баранов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ser-fantom@yandex.ru

Различия в гнездовой биологии одного и того же вида в разных частях ареала показаны для многих видов птиц, в том числе для мухоловки-пеструшки (*Ficedula hypoleuca*). Для оценки состояния популяции отдельного вида особенно показателен такой параметр как величина кладки. Цель данного исследования: в ходе многолетних наблюдений определить сроки начала размножения и средний размер кладки мухоловки-пеструшки в хвойно-широколиственных (смешанных) лесах Нижегородской области и сравнить их с аналогичными данными, полученными другими исследователями в разных частях ареала этого вида.

Исследования проведены в 2009–2011 и 2014–2015 гг. в условиях смешанных лесов на трех модельных площадках с искусственными гнездовьями, которые заложены в различных частях области. Дуплянки развешены в четыре полосы на высоте 2–3 м от земли на расстоянии около 50 м друг от друга. На первой площадке (окрестности лесопарка Зеленый город) установлено 50 дуплянок, на второй (окрестности с. Пустынь Арзамасского района) – 75, на третьей (окрестности д. Орловка Лукояновского района) – 61 (всего 186 дуплянок). Их обход совершался минимум один раз в неделю, начиная с начала мая до конца июля.

В результате многолетнего мониторинга обследовано 290 кладок мухоловки-пеструшки. Выявлено, что первые яйца появляются в гнездах обычно в середине – конце 1 декады мая: самое раннее яйцо отложено 5 мая 2009 г. Средняя дата откладки первого яйца за все годы наших исследований приходится на 27 мая. Самые поздние кладки зафиксированы 18, 19 и 22 июня (2009, 2011 и 2015 гг. соответственно). Следует отметить, что столь поздние кладки создавались взамен погибшим и разоренным. Однако настоящие повторные кладки не регистрировались.

Большинство всех кладок мухоловки-пеструшки в Нижегородской области приходится на 2 декаду мая (50,3%). В 2014 г. в этот промежуток времени откладка яиц отмечалась в 70% всех гнезд. Этот период можно считать наиболее благоприятным для размножения мухоловки-пеструшки с точки зрения погодных и кормовых условий.

Полные кладки мухоловки-пеструшки содержат 2–9 яиц. Среднее количество яиц в кладке составляет $6,30 \pm 0,06$ ($n=290$). Наибольшее количество кладок содержит 6 и 7 яиц (38,6% и 33,8% соответственно). В сравнении с данными, полученными в других частях ареала, в изучаемом регионе (центральная часть ареала мухоловки-пеструшки) средняя величина кладки больше. Отмечена тенденция к уменьшению размера кладки в течение гнездового сезона. Максимальных размеров она достигает во 2 декаде мая – в период массовой откладки яиц, затем постепенно снижается. Почти во все годы средний максимальный размер кладки приурочен к периоду массовой откладки яиц, однако в отдельные сезоны эта тенденция может изменяться.

Таким образом, полученные показатели средней величины кладки и другие характеристики гнездования мухоловки-пеструшки говорят о благоприятных для нее условиях в пределах юго-восточной границы подзоны хвойно-широколиственных лесов по сравнению с популяциями вида, обитающими на периферии ареала.

ОРГАНОГЕНЕЗ И МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ТЫКВЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Ю. Л. Барина, М. Н. Агеева, А. А. Брилкина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
egg555@yandex.ru

Тыква обыкновенная является одним из традиционных объектов исследований в физиологии растений, благодаря крупному и быстро растущему проростку. В настоящее время про микрклональное размножение и органогенез тыквы известно немного. Поэтому целью данной работы была разработка метода микрклонального размножения и органогенеза тыквы в культуре *in vitro*. В соответствии с целью были поставлены задачи: подобрать стерилизующий агент с необходимой концентрацией; определить оптимальные составы питательных сред для микрклонального размножения и органогенеза тыквы на семядолях. В качестве эксплантов для введения в культуру *in vitro* были использованы зрелые семена тыквы сорта «Волжская серая». Использовали три варианта стерилизации семян: 80% этанол (1 мин), 1% гипохлорит натрия (15 мин), 80% этанол (1 мин), 7,5% гипохлорит натрия (5 мин), 7,5% H₂O₂ (5 мин), 80% этанол (1 мин), 1% гипохлорит натрия (15 мин), 7,5% H₂O₂ (5 мин). Культивирование растений осуществляли на питательной среде Мурасиге-Скуга (МС). Для введения в культуру *in vitro* и микрклонального размножения тыквы использовалась питательная среда МС без добавления гормонов. Индукция образования побегов на семядольных эксплантах тыквы осуществлялась на питательной среде МС с добавлением гормонов: БАП (6-бензиламинопурип)/ГАЗ (гибберелловая кислота) в соотношении: 1/0,1 мг/л или 2/0,1 мг/л; БАП/НУК (α-нафтилуксусная кислота) в соотношении: 1/0,1 мг/л, 1/0,2 мг/л, 2/0,1 мг/л, 2/0,2 мг/л, БАП в концентрации 1 мг/л или 2 мг/л. Семядольные экспланты при помещении на питательную среду для индукции органогенеза делились на 3 части: основание, средняя часть и верхняя часть семядоли.

На первом этапе работы был подобран наиболее эффективный режим стерилизации семян тыквы. Было выявлено, что наилучший результат достигается при последовательном использовании 80% этанола (1 мин), 1% гипохлорит натрия (15 мин), 7,5% H₂O₂ (5 мин). При этом выход стерильных семян составляет 96%, а всхожесть семян – 75%. Также были подобраны питательные среды для органогенеза тыквы со следующим гормональным составом: 1) МС БАП/ГАЗ 2/0,1 мг/л – органогенез у 50% эксплантов, 2) МС БАП/НУК 1/0,1 мг/л – органогенез у 40% эксплантов, 3) МС БАП 1 мг/л и 2 мг/л – органогенез у 50% и 40% эксплантов соответственно.

Органогенез тыквы на данных питательных средах происходил только на эксплантах из основания семядоли. Через 15 дней после помещения на гормонсодержащую питательную среду, у 11% эксплантов возникали почки, у 39% появлялись мелкие листья. Через 4 недели наблюдалось формирование побегов (0,7–2,5 см в длину), листьев (чаще всего два крупных 2–3,7 см и 3–5 мелких 0,2–0,6 см листа) и корней (1–3 корня на экспланте, 7–10 см в длину).

В результате микрклонального размножения тыквы обыкновенной на безгормональной среде МС через 15 дней наблюдалось появление корней (1–2 шт.) 2–3,5 см в длину и формирование нового междоузлия длиной 1–1,6 см. Растения тыквы, полученные в результате микрклонального размножения через 4 недели, переводились в грунт для адаптации.

В результате проведенной работы был разработан метод микрклонального размножения и органогенеза тыквы, включающий этапы стерилизации эксплантов, их введение в культуру, органогенез на семядолях, собственно размножение и укоренение регенерантов *in vitro*.

ОЦЕНКА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ NO-ТЕРАПИИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

К. Л. Беляева¹, А. Г. Соловьева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sannag5@mail.ru

²Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава РФ,
603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18/1

Проблема термических поражений занимает одно из центральных мест в общей картине травматизма. В патогенезе развития нарушений при ожоге участвуют активные формы кислорода и продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Александрова, 2014). Активация ПОЛ при термической травме обусловлена повышенной выработкой свободных радикалов и снижением антиоксидантной активности (Владимиров, 2000). Поэтому поиск путей коррекции нарушений липопероксидации при ожогах является актуальным. В настоящее время огромный интерес к оксиду азота (NO) связан с возможностью использования его в качестве терапевтического агента. Ингаляции NO улучшают артериальную оксигенацию, ускоряют заживление ран и восстановление после хирургических операций, защищают печень и эффективно укрепляют иммунную систему. Однако сведения о его воздействии на про- и антиоксидантные системы при термической травме в литературе малочисленны. Целью работы явилось исследование влияния NO на про- и антиоксидантные системы крови животных с комбинированной термической травмой (КТТ).

Эксперимент проведен на крысах линии Wistar. Животных разделили на группы: 1 – интактная (здоровые крысы, $n=8$); 2 – контрольная (КТТ, $n=8$); 3 – опытная (животные с КТТ, которые ежедневно в течение 10 дней ингалировались NO (5 мин, 20 ppm) от генератора NO (РФЯЦ, Саров), $n=8$). Эвтаназию проводили на 10 сутки декапитацией под наркозом. В крови оценивали общую антиоксидантную активность (АОА) и ПОЛ методом биохемилюминесценции, определяли уровень малонового диальдегида (МДА), в эритроцитах исследовали активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД). Результаты обрабатывали с помощью Statistica 6.0 с использованием t -критерия Стьюдента.

Показано, что КТТ привела к достоверному снижению антиоксидантных резервов крови на фоне интенсификации процессов липопероксидации, способствуя развитию оксидативного стресса. При ожоге активность СОД, каталазы снизилась на 26% и 10% соответственно, АОА плазмы крови уменьшилась на 51% по сравнению с интактной группой крыс. Перекисное окисление липидов при КТТ возросло в плазме и эритроцитах на 10% и 38%, концентрация вторичного продукта ПОЛ (МДА) в плазме и эритроцитах увеличилась на 91% и в 2 раза по сравнению со здоровыми животными. Ингаляции NO вызвали снижение ПОЛ при КТТ в плазме и эритроцитах на 16% и 30% по данным биохемилюминесценции, уменьшение концентрации малонового диальдегида в плазме в 2,5 раза, повышение АОА на 54%, увеличение активности антиоксидантных ферментов в 2 раза по сравнению с контролем. Характер влияния NO на различные биохимические и физиологические процессы осуществляется при взаимодействии NO с биомолекулами. Основной мишенью при этом служит железо гемсодержащих белков.

Таким образом, ингаляции NO при комбинированной термической травме способствуют активации антиоксидантной системы (повышая АОА, СОД и каталазу) и снижению ПОЛ в плазме и эритроцитах, оказывая защитное воздействие против окислительного стресса, тканевой гипоксии, проявляя протекторные функции на молекулярном уровне.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ СЕЛЕНА НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОРОХА И МИКРОБНОЕ ЧИСЛО СУБСТРАТА

Е. В. Блинова, Д. Б. Смирнова, К. В. Апрятина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
iminashi@yandex.ru

Селен является одним из элементов необходимым для организма человека, поэтому важно, чтобы этот элемент потреблялся с пищей, в частности с растительной. Но нужен ли селен растениям? Как они будут реагировать на подкормку этим элементом? Как будут реагировать почвенные организмы, если добавлять селен в почву? В связи с этим, целью работы стало изучение влияния селена на растительный организм и на количественные показатели микрофлоры почвы.

Объектом исследования служили 3-недельные растения гороха, выращенные на песке при регулярном поливе разбавленной в два раза средой Хогланда-Арнона (ХА). Сосуды с растениями разделили на пять экспериментальных групп. В первой группе в субстрат вносили только раствор ХА (контроль), во вторую – раствор хитозана, в третью – нульвалентный селен в концентрации $5 \cdot 10^{-6}$ М, стабилизированный хитозаном, в четвертую и пятую – селенит натрия в концентрациях 10^{-6} М и $5 \cdot 10^{-6}$ М. Все формы селена были растворены в растворе ХА. Растения выращивали при регулярном поливе раствором ХА. По истечению трех недель находили относительное содержание воды в побегах и корнях с помощью определения их сухой и сырой массы; количественное содержание пигментов в 100% ацетоне с пересчетом по формулам Ветштейна; микробное число субстрата (песка) методом посева на почвенном агаре.

Показано, что относительное содержание воды не изменяется при различных добавках селена и в среднем составляет 90% в побегах и 80% в корнях. Содержание пигментов менялось при добавлении селенита в концентрации 10^{-6} М: концентрация хлорофилла *a* увеличилась на 24%, хлорофилла *b* – на 65%, концентрация каротиноидов снижалась на 40%. Микробное число снижалось при добавлении селенита приблизительно на 30% независимо от его концентрации, отмечена тенденция увеличения микробного числа при добавлении хитозана и селена, стабилизированного хитозаном.

Таким образом, водный обмен растений не изменялся независимо от добавления селена в любых формах. При этом селенит в малых дозах оказывает стимулирующий эффект на хлорофиллы при малых концентрациях, а на каротиноиды и микробное число – ингибирующий независимо от его концентраций.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

А. О. Богатырева, Е. В. Лияськина, В. В. Ревин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва,
430032, Саранск, ул. Ульянова, 26б; *bogatyrevaAO@mail.ru*

Целлюлоза – это один из наиболее распространенных биоразлагаемых материалов в природе, привлекающий значительное внимание исследователей по всему миру. Помимо традиционной добычи целлюлозы из растительного сырья, которая требует вырубки значительного числа лесонасаждений, а также образует большое количество отходов, негативно сказывающихся на окружающей среде, существует возможность получать данный полисахарид с помощью микробных систем. Такая целлюлоза, называемая бактериальной (БЦ), представляет особый интерес для исследователей благодаря своим уникальным физико-химическим и механическим свойствам. БЦ активно используется в медицине (для создания искусственных кровеносных сосудов, ранозаживляющих покрытий), в пищевой промышленности, в производстве ряда высокочувствительных мембран для акустических систем, а также для создания сверхлегких и сверхпрочных материалов нового поколения. Существенной проблемой для производства БЦ является ее высокая себестоимость вследствие использования дорогих сахаросодержащих сред, а также довольно низкой продуктивности процесса биосинтеза. Одним из способов решения данной проблемы является использование дешевых вторичных материальных ресурсов, таких как отходы биотехнологических производств, а также оптимизация сред на их основе. Это приведет не только к снижению себестоимости, но и увеличению выхода конечного продукта. При этом решаются и экологические проблемы, ведь многие из этих продуктов не находят рационального применения в промышленности и заводы производители вынуждены тратить определенные средства на их утилизацию и переработку. Поэтому целью работы была оптимизация питательных сред на основе отходов биотехнологических производств для получения БЦ.

Объектом исследования являлся штамм В-11267 *Gluconacetobacter sucrofermentans*, выделенный на кафедре биотехнологии МГУ им. Н.П. Огарёва. Культивирование бактерий осуществляли в шейкерах-инкубаторах ES-20/60 (BIOSAN, Латвия) и биореакторах BIOSTAT A plus объемом 1 л и BIOSTAT B plus объемом 5 л (Sartorius, Германия) в средах на основе барды и мелассы. В ходе проведенных исследований изучено влияние дополнительных источников углерода, антиоксидантов, загустителей, источников азота на биосинтез БЦ, также подобраны оптимальные значения рН питательных сред. Показано, что органические кислоты и глицерин оказывают положительное влияние на образование БЦ в средах с отходами биотехнологических производств.

Работа выполнена при финансовой поддержке министерства образования и науки Российской Федерации в рамках базовой части госзадания, проект 2913 «Исследование условий получения новых продуктов и материалов из бактериальной целлюлозы».

ФАУНА И НАСЕЛЕНИЕ ФОНОВЫХ ВИДОВ ПТИЦ ЗАПОВЕДНИКА «БОЛЬШАЯ КОКШАГА»

Е. Г. Богданов¹, В. И. Дробот¹, К. С. Мудрова¹, В. В. Дробот²

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119991, Москва, ул. Ленинские Горы, 1; *drobot58@gmail.com*

Цель настоящей работы – изучение динамики населения фоновых видов птиц Государственного природного заповедника «Большая Кокшага» (Республика Марий Эл). Сбор материала осуществлялся в центральной части заповедника методом маршрутных учетов без ограничения полосы обнаружения с расчетом плотности населения по средним дальностям обнаружения. Учет птиц проводился на постоянном маршруте протяженностью 3,5 км. Полевые исследования проходили в апреле – мае 2014 и 2015 гг. Для более полного выявления авифауны в 2014 г. учеты проводились в трехкратной повторности, в 2015 г. – в шестикратной повторности. Общая протяженность учетных маршрутов составила 31,5 км. Анализ полученных результатов проводился по максимальным за сезон значениям численности птиц. В настоящей работе представлены данные по фоновым видам с показателями плотности не менее 1 особи/км². В 2014 г. было отмечено 26 фоновых видов из 8 отрядов, 16 семейств. Наиболее разнообразна фауна птиц отряда Passeriformes – 9 семейств, 17 видов. Представители прочих отрядов (Anseriformes, Falconiformes, Galliformes, Charadriiformes, Columbiformes, Cuculiformes и Piciformes) были представлены единичными видами. По количественным показателям доминируют воробьиные птицы. Лидирующее положение занимает зяблик, плотность которого составила 154,3 особи/км². Остальные виды значительно отстают от него. Тем не менее, высокие показатели плотности наблюдаются у следующих видов: конек лесной (57,1 особи/км²), пеночка-теньковка (40,0 особей/км²), мухоловка-пеструшка (39,9 особи/км²). Следует отметить высокие значения плотности населения у таких видов как овсянка обыкновенная (28,8 особи/км²), чечевица обыкновенная, поползень обыкновенный, белобровик, чекан луговой (у всех по 22,9 особи/км²). Из представителей других отрядов высокая плотность населения у рябчика (28,4 особи/км²) и дятла пестрого (22,9 особи/км²). Суммарная плотность населения фоновых видов птиц весной 2014 г. составила 611,5 особи/км².

В 2015 г. было зарегистрировано 23 фоновых вида птиц из 8 отрядов, 15 семейств. Большинство видов, доминировавших в 2014 г., сохранили свои позиции, но количественные показатели у них оказались ниже. Наиболее разнообразной осталась фауна воробьинообразных (8 семейств, 15 видов). Остальные отряды были представлены единичными видами. По количественным показателям лидирующее положение занимали те же виды, что и в 2014 г.: зяблик (171,6 особи/км²), конек лесной (44,4 особи/км²), пеночка-теньковка (32,3 особи/км²). Следует отметить высокую численность мухоловки-пеструшки, пеночки-веснички, синицы длиннохвостой, дрозда певчего. Из представителей прочих отрядов высокая плотность населения зафиксирована у рябчика (12,1 особи/км²) и вертишейки (18,1 особи/км²). В целом у большинства видов, за исключением зяблика, показатели плотности ниже, чем в 2014 г. Суммарная плотность населения птиц весной 2015 г. составила 480,4 особи/км², что в 1,3 раза ниже данных 2014 г. Это, вероятно, объясняется более ранним сроком окончания учетов в 2015 г. и возможным влиянием неблагоприятных погодных условий.

БИОЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОХООБРАЗНЫХ В ЛИПНЯКАХ И ДУБРАВАХ КРАСНОСАМАРСКОГО ЛЕСНОГО МАССИВА

Я. А. Богданова

Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева,
443011, Самара, ул. Академика Павлова, 1; bogdanova.ya@yandex.ru

В лесостепной зоне в пределах Самарской области единственным относительно крупным лесным массивом является Красносамарское лесничество. Среди естественных типов растительности здесь преобладают липняки и дубравы. С 2010 г. нами исследуется видовой состав мохообразных маршрутным методом и на постоянных пробных площадях. В липняках Красносамарского лесного массива выявлено 11 листостебельных видов (7 бокоплодных и 4 верхплодных) и 2 печёночников (*Ptilidium pulcherrimum* и *Radula complanata*), в дубравах – 17 видов (9 верхплодных и 8 бокоплодных), один из которых занесён в Красную книгу Самарской области и нуждается в региональной охране – *Leucodon sciuroides*.

Для дубрав и липняков Красносамарского лесного массива отмечено 6 общих видов: *Orthotrichum speciosum*, *Bryum caespiticium*, *Brachythecium salebrosum*, *Platygyrium repens*, *Pseudoleskeella nervosa*, *Pylaisia polyantha*, *Stereodon pallescens*. Доминирующим видом в обоих типах сообществ является *Pseudoleskeella nervosa*, однако ее среднее проективное покрытие в липняках в 4 раза выше – от 20% в липняках до 5% в дубравах, а жизненность в обоих типах сообществ одинакова – 2 балла (площадь некрозов и хлорозов менее 30%). Также в дубравах отмечено массовое развитие *Stereodon pallescens*, а в липняках – *Pylaisia polyantha*. Следует отметить, что из-за мощного слоя опада в дубравах и липняках мохообразные на почве практически не встречаются, в основном произрастая на коре деревьев и на гниющей древесине.

В ходе геоботанических описаний пробных площадей также проводилась глазомерная характеристика светового режима, режима увлажнения, оценивалось богатство почв. Световой режим дубрав полуосветлённый, липняков – полутеневой. Почвы по трофотопу не различаются (среднеплодородные), однако имеются отличия по их влажности: в липняках почвы свежие, а в дубравах – свежеватые. Вероятно, различиями во влажности можно объяснить наличие печёночных мхов в обследованных липняках и их отсутствие в дубравах.

Таким образом, в Красносамарском лесном массиве видовое разнообразие мохообразных в дубравах несколько больше, чем в липняках – 17 и 13 видов соответственно, из них 6 видов общих, при этом только 3 вида выступают в качестве доминантов *Pseudoleskeella nervosa*, *Pylaisia polyantha* и *Stereodon pallescens*. В дубравах отсутствуют виды печёночных мхов. Дубравы Красносамарского лесного массива являются рефугиумом для вида, занесённого в Красную книгу Самарской области – *Leucodon sciuroides*.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЛОКАТОРОВ TNF В ШТАММАХ *ESCHERICHIA COLI* И ИХ ОЧИСТКА

***Е. В. Большакова*¹, *Е. А. Василенко*¹, *В. В. Мохонов*¹, *Г. А. Ефимов*^{1, 2}, *Д. С. Шварев*²,
Ф. Н. Розов^{1, 3}, *С. В. Тиллиб*⁴, *Д. В. Новиков*¹, *А. А. Круглов*^{1, 3}, *С. А. Недоспасов*¹⁻³**

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lena16.07.95@mail.ru

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

⁴Институт биологии гена РАН, Москва

Недавние исследования показали, что функции фактора некроза опухоли (TNF) как защитные, так и патогенные, зависят от типа продуцирующих его клеток. Поэтому направленная нейтрализация негативных эффектов TNF, экспрессируемого определенным типом клеток, может стать перспективным подходом к терапии многих аутоиммунных заболеваний. Одним из способов такой нейтрализации является использование рекомбинантных белков-блокаторов. Целью настоящей работы явилось получение и очистка рекомбинантных белков, обладающих anti-TNF активностью: BV1, BV1-C и BV1-mut для дальнейшего изучения их биологических свойств.

В работе использовали биспецифические наноантитела следующего состава: BV1, состоит из домена, связывающего TNF человека, и домена против поверхностного маркера F4/80 макрофагов мыши; BV1-mut, в состав которого помимо домена, связывающего TNF, входит мутированная аминокислотная последовательность антител к F4/80, а также BV1-C – биспецифическое наноантитело против белка лактоферрина и человеческого TNF.

Исследуемые биспецифические наноантитела были экспрессированы в штамме Rosetta 2(DE3)pLysS *Escherichia coli*. Очистку белков осуществляли с помощью металл-хелатной хроматографии. В связи с тем, что белки BV1 и BV1-C экспрессировались в растворимой форме в цитоплазме клетки, а BV1-mut – в виде «телец включений», очистку первых двух белков проводили в нативных условиях, а BV1-mut – с использованием хаотропных агентов (6 М гуанидин-HCl). В состав всех буферов (pH=8,0), используемых в процессе очистки, входили: 25 мМ HEPES, 500 мМ NaCl, 10% глицерина, 2 мМ β-меркаптоэтанол, 0,02% v/v TritonX-100 и различные концентрации имидазола: 5 мМ – для лизирующего буфера (в состав которого дополнительно входили ингибитор протеиназ и лизоцим), 10 мМ – для промывочного буфера и 300 мМ – для элюирующего.

Для восстановления активной структуры BV1-mut после очистки в денатурирующих условиях, был необходим рефолдинг белка. После диализа BV1mut против деионизованной воды обнаружено, что белок способен самопроизвольно приобретать растворимую форму. Конечный буфер для всех белков состоял из: 25 мМ HEPES (pH=8,0), 150 мМ NaCl, 10 % глюкозы, 50 мМ аргинина и 50 мМ глутаминовой кислоты. Наличие и чистоту белков в элюате оценивали методом электрофореза в ПААГ в денатурирующих условиях. Активность полученных белков проверяли с помощью ELISA.

В результате работы были выделены активные биспецифические наноантитела BV1, BV1-C и BV1-mut с достаточной степенью чистоты, готовые к последующим *in vitro* и *in vivo* исследованиям.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства РФ и Министерства образования и науки РФ (грант № 14.Z50.31.0008).

СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ

А. А. Булыгина¹, Н. Ю. Вискова², Т. В. Кашиго^{1, 2}

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

²Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18; *Bulygina.anu@yandex.ru*

Вирусные векторы в настоящее время широко используются для переноса генов в клетки, в качестве вакцин и для генной терапии. Вирусные векторы получают и наращивают в культуре клеток млекопитающих. Разработка современных высокотехнологичных способов культивирования эукариотических клеток является одно из основных задач биотехнологии.

Среди различных методов культивирования выделяют культивирование в монослое, при котором клетки культивируются на поверхности матрасов или располагаются по всей цилиндрической поверхности горизонтально вращающихся сосудов и периодически омываются питательной средой. Также существует метод культивирования клеток в суспензии. Такой вид культивирования ускоряет рост клеток, т.к. они равномерно распределены по всему объему ферментера и в каждый момент времени находятся в одинаковых условиях.

Современным методам выращивания клеток отвечает культивирование клеток в суспензии с помощью биореакторов волнового типа. Основной характеристикой таких биореакторов является то, что в системе используются одноразовые стерильные емкости (мешки) и соединения. Биореактор представляет собой пластиковую эластичную емкость (мешок), содержимое которого перемешивается с помощью плавного покачивания в вертикальной плоскости на специальном ротаторе. Основным преимуществом культивирования клеток в волновых биореакторах является особый способ перемешивания клеток, при котором практически нивелируются возможности их повреждения. Дополнительными преимуществами такого способа культивирования являются следующие: однородность клеток в суспензии, возможность длительного поддержания клеток в логарифмической фазе роста, перспективы математического моделирования процессов клеточного роста в зависимости от влияния факторов внешней среды, удобство многократного исследования физиологического состояния культуры клеток в суспензии.

В ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи несколько лет используют волновые биореакторы компаний Sartorius и General Electric. На базе лаборатории биотехнологии были разработаны методы для получения вакцин и вирусных векторов на основе рекомбинантных аденовирусов 5-го серотипа. Производство рекомбинантных аденовирусов проводят в специфической суспензионной культуре клеток млекопитающих – НЕК293. Клетки этой линии содержат встроенную в геном E1-область генома аденовируса человека 5-го серотипа (ответственна за размножение аденовируса в клетках), что позволяет рекомбинантным аденовирусам размножаться в этих клетках. В других клетках млекопитающих такие вирусные векторы не размножаются, так как область E1 у них делетирована. Культивирование клеток в волновом биореакторе для продукции аденовирусных векторов оказалось более эффективно. Урожайность вирусного вектора составила $2 \cdot 10^{14}$ частиц при выращивании в 5 литрах клеточной суспензии.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА РАЗНЫХ ТИПОВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОГО ИМИДЖИНГА

А. С. Быстрова¹, А. В. Мелешина², В. В. Дуденкова^{1, 2}, Е. В. Загайнова^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
bystrova93@gmail.com

²Институт биомедицинских технологий Нижегородской государственной медицинской академии, 603104, Нижний Новгород, ул. Медицинская, 1

Исследование свойств стволовых клеток (СК) человека и животных являются важнейшими задачами современной клеточной биологии и биоинженерии. В настоящее время большой интерес представляет исследование метаболического статуса СК при направленных дифференцировках. Известно, что энергетический обмен в клетках является важным показателем способности СК к дифференцировке и самообновлению. Наряду с традиционными методами для изучения морфологии и физиологии СК *in vitro* используются новые прижизненные методы исследования клеточного метаболизма, среди которых FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy) метод.

Целью данной работы является исследование энергетического статуса разных типов стволовых клеток: эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), мезенхимных стволовых клеток костного мозга (МСК) и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) по изменению времен жизни внутриклеточных метаболитов НАД(Ф)Н и ФАД методом FLIM микроскопии.

В данной работе в качестве объекта исследования использовали культуры СК: эмбриональных стволовых клеток, костно-мозговых мезенхимных стволовых клеток и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Культивирование СК осуществляли с использованием стандартных протоколов. Исследование энергетического метаболизма СК осуществлялось по времени жизни флуоресценции разных форм внутриклеточных коферментов НАД(Ф)Н и ФАД (свободной и связанной). Визуализацию осуществляли с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 710 в сочетании с FLIM системой. Флуоресценцию НАД(Ф)Н возбуждали на длине волны 750 нм, эмиссию детектировали в диапазоне 455–500 нм, флуоресценцию ФАД возбуждали на длине волны 900 нм, эмиссию детектировали в диапазоне 500–550 нм. Полученные изображения обрабатывались с помощью программы ImageJ и SPCImage (Becker&Nickl).

При обработке FLIM изображений были зарегистрированы значения следующих параметров: τ_1 (пс) – время жизни флуоресценции короткой компоненты, что соответствует свободной форме НАД(Ф)Н и связанной форме ФАД; τ_2 (пс) – время жизни флуоресценции длинной компоненты, что соответствует связанной форме НАД(Ф)Н и свободной форме ФАД; a_1 (%) – вклад короткой компоненты во время жизни флуоресценции; a_2 (%) – вклад длинной компоненты во время жизни флуоресценции. В ЭСК и ИПСК времена жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАД(Ф)Н и ФАД имели схожие значения и составили 530 ± 85 пс и 2860 ± 140 пс, 2740 ± 150 пс и 550 ± 85 пс соответственно. В МСК времена жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАД(Ф)Н составили 450 ± 73 пс и 2848 ± 126 пс соответственно, а времена жизни флуоресценции свободной и связанной форм ФАД составили 2602 ± 48 пс и 408 ± 17 пс.

Полученные результаты по временам жизни флуоресценции внутриклеточных кофакторов согласуются с имеющимися литературными данными о таковых показателях в СК и позволяют предположить о преобладании гликолитического пути синтеза АТФ в недифференцированных СК всех трех типов.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РЯДА РАСТВОРИМЫХ ФОРМ
ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ**

Е. В. Ваздаева, Н. И. Кузнецова, Е. С. Касатова, В. В. Новиков

НИЦ МБМ Университета Лобачевского, 603005, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д;
vazhdaeva1994@gmail.com

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одним из наиболее распространенных заболеваний дыхательных путей и характеризуется ограничением скорости воздушного потока. Это связано с повышенным хроническим воспалительным ответом легких на действие патогенных частиц или газов. Традиционно диагностика и определение степени тяжести заболевания основываются на данных спирометрии, однако медленное и прогрессирующее течение хронической обструктивной болезни легких ставит вопрос о необходимости более раннего ее выявления. Одним из перспективных методов исследования крови при ХОБЛ является иммуноферментный анализ. С его помощью можно определить такие иммунологически значимые показатели, как активность ферментов, концентрация цитокинов, а также присутствие и содержание ряда растворимых дифференцировочных молекул, которые при определенных условиях могут выступать маркерами тяжести заболевания. К таким молекулам относятся, в частности sCD25, sCD38, sCD50, sCD54. Так, было установлено, что уровень sCD25 отражает уровень активации Т-лимфоцитов, одновременно тормозит иммунные реакции, ограничивая чрезмерно развитый иммунный ответ при гиперактивации иммунной системы. sCD38 блокирует иммунорегуляторные функции мембранной формы, тем самым препятствует активации лимфоцитов, лейкоцитов, моноцитов и других клеток иммунной системы. sCD50 связываясь с антигеном на поверхности антигенпрезентирующих клеток может тормозить запуск иммунного ответа. sCD54 может модулировать адгезию лейкоцитов и межклеточные взаимодействия.

Литературные данные об изменении уровня указанных молекул немногочисленны и противоречивы. В связи с этим, целью данной работы явилось определение содержания растворимых форм дифференцировочных антигенов CD25, CD38, CD50, CD54 в сыворотке крови больных ХОБЛ.

В исследовании использовались 39 образцов сыворотки крови больных ХОБЛ, обследуемых в больнице № 10 Нижнего Новгорода. В качестве контрольной группы использовали сыворотки крови здоровых доноров (20 образцов). Сывороточное содержание исследуемых молекул определяли иммуноферментным методом. В эксперименте использовали козы поликлональные антитела и мышинные моноклональные антитела. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна-Уитни с применением пакета статистических программ Statistica 8.0.

В ходе исследования было выявлено достоверное снижение сывороточного содержания всех анализируемых антигенов по сравнению с сыворотками крови здоровых людей, что, предположительно, может быть связано с угнетением иммунной системы и свидетельствовать о вероятном участии данных молекул в патогенетических механизмах развития данного заболевания.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ДНК ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛИЧНОСТИ ПОГИБШИХ ЛЕТЧИКОВ

М. Ю. Вакуленко, Ю. С. Зибров, Н. И. Акинина, Т. А. Терпитская

Ростовский государственный медицинский университет, 344022, Ростов-на-Дону,
пер. Нахичеванский, 29; *Nikdentella-22@yandex.ru*

В конце января 2016 г. под Таганрогом в результате проведения поисковых работ участники патриотического объединения «Миус-фронт» обнаружили обломки советского самолета времен Великой отечественной войны. Машина была сильно повреждена, поэтому не удалось найти ни документы, ни личные вещи летчиков. Только фрагментированные останки костей. Однако уцелели серийные номера мотора и радиатора охлаждения. Благодаря этим данным, поисковики нашли сохранившуюся в архивах информацию, которая позволила установить тип воздушной машины и предполагаемые имена погибших пилотов. Оказалось, что речь идет о бомбардировщике ДБ-3Ф, который входил в состав 81-го дальнебомбардировочного авиаполка. Экипаж самолета числился пропавшим без вести 17 октября 1941 г. Нам удалось установить, что в состав экипажа входили штурман (стрелок-бомбардир, стрелок передней установки) лейтенант Лыхопий Павел Яковлевич, стрелок-радист (стрелок средней установки, башенный стрелок) старший сержант Нарижный Алексей Степанович, стрелок люковой установки, младший сержант Дзюба Владимир Романович. Глава поискового объединения «Миус-Фронт» А. Ю. Кудряков связался с родственниками лейтенанта Лыхопия и сержанта Дзюба. С учетом того, что среди костных останков был обнаружен фрагмент нижней челюсти с коренными зубами, пригодными для анализа ДНК, мы решили провести идентификацию личности погибшего. Цель работы – идентифицировать личность летчика, погибшего в ходе воздушного боя 17 октября 1941 г.

Анализы проводились в Ростове-на-Дону на базе научной лаборатории «Идентификации объектов биологического происхождения» Южного Федерального Университета, под руководством И. В. Корниенко. Методы используемые для анализа ДНК: молекулярно-генетический анализ аутосомных маркеров и маркерный анализ гаплотипа по Y хромосоме. В результате проведения сравнительного анализа ДНК погибшего летчика с генетическим материалом, полученным от внука сержанта Дзюба факт родства подтвержден не был.

Так как нам не удалось подтвердить родство с ныне живущим родственником, возможны три варианта. Либо костные останки могут принадлежать другим членам экипажа сержанту Нарижному или Лыхопию, либо результат может являться ложно негативным, либо погибший не являлся биологическим отцом своим анаграфическим детям.

**ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ В
ESCHERICHIA COLI МИНИАНТИТЕЛА ПРОТИВ MUC1, СЛИТОГО С
ЭНТЕРОТОКСИНОМ NSP4 РОТАВИРУСА ЧЕЛОВЕКА**

П. И. Васильчиков, Н. Н. Гурина, Л. Б. Луковникова, А. Д. Перенков, Д. В. Новиков
НИЦ МБМ Университета Лобачевского, 603005, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д;
eukarioshka@mail.ru

Иммунотерапия с использованием антител против раковых антигенов является перспективным направлением в лечении рака. Одним из раковых антигенов является муцин 1 (MUC1), который гипогликозилирован и избыточно экспрессируется на большинстве раковых клеток. Ранее в РОНЦ им. Н.Н. Блохина с использованием гибридных технологий было получено моноклональное антитело мыши ИКО-25, специфичное к молекуле MUC1 человека. Антитело относится к подклассу иммуноглобулинов IgG1. Однако использование в качестве противоопухолевого препарата антител мыши затруднено из-за их иммуногенности. Данная проблема решается получением рекомбинантного аналога, представляющего одноцепочечный фрагмент антитела scFv (single chain Fragment variable), содержащий объединенные последовательности легкой и тяжелой цепей. Действие такого антитела возможно усилить за счет объединения с молекулами, обладающими цитотоксичностью. Гликопротеин NSP4 представляет собой продукт трансляции 10-го сегмента днРНК генома ротавируса, который играет ведущую роль в патогенезе ротавирусной инфекции и обладает свойствами энтеротоксина. Экспрессия NSP4 ротавируса приводит к дестабилизации мембраны и последующему лизису клетки. Данное свойство позволяет использовать NSP4 для разработки препарата, направленного против MUC1, обладающего цитотоксичностью для клетки-мишени. Целью данной работы явилось получение генетической конструкции, кодирующей scFv фрагмент ИКО-25, слитый с NSP4, для дальнейшей экспрессии рекомбинантного белка в клетках *Escherichia coli*.

С использованием нуклеотидных последовательностей scFv фрагмента ИКО-25, содержащего кодоны, оптимизированные для *E. coli*, и фрагмента NSP4 ротавируса человека группы В G1P[8]-2, нами была разработана первичная структура генетической конструкции антитела против MUC1 слитой с фрагментом, кодирующим 112–175 аминокислоты NSP4. Данная последовательность содержит 997 пар оснований (п. о.). Иницирующий кодон (ATG) расположен на участке с 1 по 3 п. о. Последовательность, кодирующая scFv, состоит из тяжелой цепи (1–357 п. о.), (SG4)3 – линкера (358–405 п. о.), легкой цепи (406–738 п. о.), линкера (SG4)2 – (739–786 п. о.), функционального домена NSP4 ротавируса человека группы В G1P[8]-2 (787–975 п. о.), последовательности, кодирующей шесть остатков гистидина, и стоп кодона (976–997 п. о.). На основе схемы были подобраны олигонуклеотидные праймеры, в последовательность которых были внесены сайты узнавания для эндонуклеаз рестрикции. кДНК scFv фрагмента ИКО-25 и фрагмента NSP4 нарабатывали методом ПЦР с использованием подобранных праймеров. Полученные фрагменты ДНК вырезали из агарозного геля и использовали для слияния в процессе ПЦР. Фрагмент ДНК scFv+NSP4 и плазмиду pET26b(+) обрабатывали эндонуклеазами рестрикции NdeI и XhoI, затем лигировали. Полученной лигазной смесью трансформировали клетки *E. coli* Top10 и проводили молекулярное клонирование. Отобранные плазмиды, несущие генетическую конструкцию проверяли на наличие ошибок методом определения первичной структуры.

Таким образом, была получена генетическая конструкция, кодирующая scFv против MUC1, слитый с функциональным доменом NSP4 ротавируса человека, находящаяся в составе плазмиды pET26b(+) под контролем промотора бактериофага T7, которая будет использована для экспрессии рекомбинантного белка в клетках *E. coli*, содержащих DE3 лизоген.

Ca²⁺-ЗАВИСИМАЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ ПТИЦ

А. А. Ведерников, М. В. Дубинин, В. Н. Самарцев

Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
aa.vedernikov90@gmail.com

Механизмы и пути регуляции Ca²⁺-зависимой неспецифической проницаемости внутренней мембраны изучены в основном на митохондриях печени и сердца лабораторных крыс и мышей, которые характеризуются относительно короткой продолжительностью жизни. Птицы по сравнению с млекопитающими одинаковой массы тела характеризуются более интенсивным метаболизмом, а также более высокой температурой тела и большей потенциальной максимальной продолжительностью жизни. Однако до сих пор отсутствуют данные о механизме и пути регуляции Ca²⁺-зависимой поры в митохондриях жизненно важных органов птиц. Исследования были проведены на митохондриях, выделенных из печени сизых голубей, а также серо-крапчатых и загорских белогрудых цесарок, отличающихся по продуктивным признакам.

Показано, что в митохондриях печени изученных птиц возможна индукция неспецифической проницаемости внутренней мембраны, реализуемой по ЦсА-чувствительному и ЦсА-нечувствительному механизмам. Кальциевая емкость митохондрий печени цесарок в 10–20 раз превосходит данный показатель для митохондрий печени лабораторных крыс и мышей. Отмечено, что митохондрии печени голубей практически неспособны поглощать ионы кальция. Митохондрии печени изученных птиц обладают более высокой устойчивостью к действию окисляющего агента трет-бутилгидропероксида как к индуктору неспецифической проницаемости внутренней мембраны. В митохондриях печени голубей и цесарок α,ω -гексадекандикарбоновая кислота индуцирует ЦсА-нечувствительную неспецифическую проницаемость внутренней мембраны менее эффективно по сравнению с митохондриями печени крыс и мышей.

Таким образом, показано, что митохондрии печени цесарок и голубей обладают значительно большей резистентностью к индукции неспецифической проницаемости внутренней мембраны, по сравнению с митохондриями лабораторных крыс и мышей.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (№ 14-04-00688-а и № 16-34-00435 мол_а).

ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА СОРТОВ ВОСТОЧНЫХ ГИБРИДОВ ЛИЛИЙ (*LILIUM ORIENTAL HYBRIDS*) И МУСКАРИ (*MUSCARI BOTRYOIDES*) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

О. А. Ведяшкина, Е. В. Мокшин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, 430000,
Саранск, ул. Большевистская, 68; vedyashkina-olga@mail.ru, evmokshin@yandex.ru

В настоящее время растет спрос на декоративные луковичные растения, которые широко используются для озеленения улиц и офисов и как срезочные цветы. Восточные гибриды лилий и мускари, как неприхотливые объекты, обладающие широкой гаммой окраски, вызывают повышенный интерес, в связи с чем необходимо их ускоренное размножение с последующим получением высококачественного посадочного материала. Это возможно при использовании методов клонального размножения *in vitro*. Большую роль при этом играют соотношение и концентрация вносимых в питательную среду стимуляторов роста и источника углеродного питания, которые индуцируют клеточные деления в эксплантах, а также органогенез и морфогенез. Поскольку различные гибриды и сорта предъявляют неодинаковые требования к условиям выращивания, для каждого нового объекта необходимо эмпирически подбирать оптимальные параметры культивирования и размножения *in vitro*, что и составило задачу данного исследования.

Объектами исследования служили коммерческие луковицы лилий (*Lilium Oriental hybrids*) сортов Casablanca и Olympic Star и *Muscari botryoides* сортов Album и Superstar. Для получения хорошо растущей стерильной культуры луковицы делили на чешуйки, которые тщательно отмывали и подвергали ступенчатой стерилизации: 70% этанол (2 минуты), 6% хлорамин (20 минут) и/или 50% Domestos (20–25 мин). Затем чешуи трехкратно промывали стерильной дистиллированной водой и подрезали места облома на расстоянии 1–1,5 мм от края. Экспланты (сегменты чешуек размером 0,5x0,5 см) помещали на питательную среду. В качестве основной питательной среды использовали агаризованную (0,7%) среду с минеральной основой по Мурасиге и Скугу (МС) ($pH=5,8-5,9$), включающую витамины тиамин и пиридоксин (по 1 мг/л), аскорбиновую кислоту (15 мг/л). На разных этапах морфогенеза (индукция адвентивных луковиц, побегообразование) в питательной среде варьировали источник углерода – сахарозу, глюкозу или фруктозу (от 10 до 80 г/л) и регуляторы роста – индолилуксусную кислоту (ИУК; от 0,1 до 1 мг/л), 6-бензиламинопури (6-БАП; от 0,1 до 4 мг/л), препараты Рибав-Экстра и Эпин-Экстра (оба в концентрации $10^{-7}-10^{-2}\%$). Выращивание осуществляли при температуре +23–25°C и освещении белыми люминесцентными лампами с интенсивностью света 3 клк с фотопериодом 12/12 ч.

В результате проведенных исследований установили, что наилучшим для стерилизации оказался режим 6% хлорамин (20 мин) + 50% Domestos (25 мин) + спирт 70% (2 мин). Процент стерильных эксплантов для всех сортов составил около 90%. Все экспланты оказались жизнеспособными и успешно развивались. При изучении влияния регуляторов роста и их концентраций на индукцию микролуковичек и побегообразование установили, что наиболее активно у лилий данные процессы шли на среде, дополненной 10^{-3} и $10^{-2}\%$ Рибав-Экстра, а у мускари – на средах с добавлением 2,5–3,0 мг/л 6-БАП и $10^{-4}\%$ Рибав-Экстра. При изучении влияния источника углеродного питания на органогенез лилий и мускари в культуре *in vitro* выяснили, что наибольшую тенденцию к увеличению длины побега показали экспланты, культивируемые на среде с 40 г/л сахарозы.

Полученные данные позволяют оптимизировать процессы клонального размножения *in vitro* сортов восточных гибридов лилий и мускари.

Результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России (проект № 6.783.2014К).

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВВЕДЕНИИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА «АПИНГАЛИН» В УСЛОВИЯХ АДРЕНАЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

К. М. Власова, С. В. Копылова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ksyuhavlasov@rambler.ru

Эндогенная интоксикация – одна из серьезных патологий человека при многих системных заболеваниях. Она характеризуется перестройкой обменных и разбалансировкой иммунологических процессов, что отражается на гомеостазе и общей резистентности организма. Поэтому разработка и внедрение препаратов природного происхождения для детоксикации организма является актуальной задачей. Целью исследования было изучение возможности применения комплексного препарата «Апингалин», представляющего собой водно-спиртовую суспензию на основе пчелиного прополиса и маточного молочка, при экспериментальной эндогенной интоксикации у крыс.

Исследование гематологических показателей крови при ингаляционном введении комплексного препарата «Апингалин» в условиях адреналовой интоксикации проводили на 30 белых крысах (самки породы Wistar, массой 180–200 г). Лабораторные животные были разделены на 3 группы: 1) интактные, 2) контроль – адреналовая интоксикация (однократно вводили 0,5 мг/кг адреналина гидрохлорид) и 3) опыт (проводились курсовые ингаляции препаратом «Апингалин»). Определение основных гематологических показателей осуществляли на 10-й день наблюдений на гематологическом анализаторе «Abacus junior». На 10-й день после введения адреналина в группе 2 отмечен лейкоцитоз (26% относительно группы 1), обусловленный в большей степени повышением лимфоцитов и нейтрофилов (25% и 26% относительно группы 1 соответственно). Как известно, увеличение содержания нейтрофилов связано с увеличением содержания в крови адреналина и глюкокортикоидов. Отмечено незначительное уменьшение гематокрита (7% относительно группы 1), повышение концентрации гемоглобина при оставшемся практически на том же уровне количестве эритроцитов. В системе свертывания у крыс группы 2 наблюдается увеличение тромбоцитов (22% относительно группы 1) при снижении тромбокриты на 27% относительно группы 1. Тромбоцитемия характерна для протекания различных патологических и воспалительных процессов, обусловлена увеличением содержания в крови катехоламинов при активации симпато-адреналовой системы. Состояние организма характеризовалось повышенной активацией с выраженными признаками напряженности в функционировании подсистем.

При проведении курсовой ингаляции комплексным препаратом «Апингалин» было установлено, что на 10-й день в группе 3 произошло уменьшение общего количества лейкоцитов на 12% относительно группы 2, характеризующееся в большей степени снижением показателей лимфоцитов и нейтрофилов (11% и 12% относительно группы 2 соответственно). В пуле красной крови наблюдалось снижение концентрации гемоглобина (31% относительно группы 2), несущее однонаправленный характер с уменьшением в крови крыс группы 3 количества эритроцитов (35% относительно группы 2). Снижается эффективность эритропоэза, связанная, очевидно, с уменьшением содержания в крови ретикулоцитов или снижением скорости их созревания. Отмечено уменьшение содержания тромбоцитов (20% относительно группы 2) и незначительное уменьшение тромбокриты.

Из полученных результатов следует, что курсовая ингаляция комплексным препаратом «Апингалин» имеет положительное влияние на функциональное состояние клеток крови, в частности подавляя повышенную агрегацию тромбоцитов, т.е. препятствуя образованию тромбов, а также оказывает иммуностимулирующее действие, способствующее инициации процесса ликвидации воспаления и общего патологического состояния организма.

ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ-КОРНЕОБИТАТЕЛЕЙ НА СОДЕРЖАНИЯ ВАЛОВОГО ФОСФОРА В ГРУНТЕ ГОРШЕЧНЫХ РАСТЕНИЙ КЛЮКВЫ НА ЭТАПЕ *EX VITRO*

А. С. Володина, В. Т. Зобкова, А. В. Юдинцев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Volodina.anya@outlook.com

Многие мицелиальные грибы облегчают поступление фосфора в растения, увеличивая его подвижность в почве. Лучшее снабжение фосфором способствует росту и развитию растений. В то же время практически не изучена способность к изъятию почвенного фосфора для грибов-корнеобитателей эрикоидных растений. Нами исследовалось воздействие сапротрофного микромицета *Trichoderma virens* (штамм ВКМ F-1117) и гриба-микоризообразователя *Phialocephala fortinii* на содержание фосфора в почве в процессе горшечного культивирования саженцев клюквы крупноплодной *Oxycoccus macrocarpus*.

Двухмесячные растения клюквы крупноплодной сортов Ховес и Стивенс, полученные *in vitro* на питательной среде Андерсона, высаживали в стерильный торфяной грунт. В вариантах «опыт *Tr*» и «опыт *Ph*» в грунт соответственно вносили двухнедельную культуру *T. virens* или двухмесячную культуру *P. fortinii*, выращенных на среде Чапека-Докса. В варианте «контроль» инокуляцию грибом не производили. Проникновение мицелия в корни растений подтверждали с помощью системы лазерной сканирующей микроскопии Carl Zeiss LSM 710 на базе инвертированного микроскопа Axio Observe Z1 (Carl Zeiss, Германия). Автофлуоресценцию клеток растений наблюдали при возбуждении лазером 488 нм и эмиссии на 508–540 нм. Мицелий, окрашенный трипановым синим, обнаруживали при возбуждении лазером 488 нм и эмиссии на 580–735 нм. Через 5 и 10 месяцев роста растений в почве культивационных сосудов определяли содержание общего (валового) фосфора спектрофотометрическим методом по образованию «молибденовой сини». Для этого просеянную почву подвергали «сухому» озолению в муфельной печи (+500°C, 3ч). Зола после сжигания обрабатывали азотной и фтористоводородной кислотами, затем выпаривали их досуха. Растворив остаток в концентрированной азотной кислоте, проводили фильтрацию. К фильтрату добавляли молибдат аммония, дающий с фосфат-ионами гетерополиоксидную кислоту. В качестве восстановителя этой кислоты до «молибденовой сини» использовали аскорбиновую кислоту, а в качестве катализатора процесса – сурьмяновиннокислый калий. Количество фосфора определяли по оптической плотности полученного раствора «молибденовой сини» при $\lambda=750$ нм с использованием калибровочного графика. Производили пересчет на 100 г почвы. Обрабатывали результаты анализа трех параллельных определений.

Установлено, что в присутствии грибов (как *T. virens*, так и *P. fortinii*) содержание фосфора в почве падало не менее чем на 5% ниже по сравнению с контрольными образцами. Это указывает на то, что данные микромицеты способны усиливать изъятие этого элемента из субстрата. В то же время рассматриваемое воздействие *P. fortinii* всегда более эффективно, чем воздействие *T. virens*: в присутствии первого гриба убывание фосфора обычно составляло 15–20%, тогда как в присутствии второго – редко достигало 17%. Полученные данные показывают перспективность изученных видов для увеличения доступности фосфора для растений на этапе *ex vitro* микрклонального размножения клюквы крупноплодной.

ЗООПЛАНКТОН РЕФУГИУМОВ МАЛОЙ РЕКИ НИЖНЕГО НОВГОРОДА: ВИДОВАЯ СТРУКТУРА И УЧАСТИЕ В САМООЧИЩЕНИИ

Д. Е. Гаврилко

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

dima_gavrilko@mail.ru

Зоопланктон – вторичное звено водных экосистем, активно участвует в процессах самоочищения. Особое место в формировании зоопланктона малых рек принадлежит системе естественных рефугиумов – затишных участков русла, притоков основного русла, зарослей макрофитов. Рефугиумы играют важную роль в поддержании биологического разнообразия водотоков. Целью нашей работы было изучение видовой структуры и участия в самоочищении зоопланктона биотопов с различной водной растительностью реки Левинка Нижнего Новгорода. Исследования зоопланктона проводили в летний период 1 раз в месяц (в середине июня, июля и августа) 2015 г. на участке среднего течения р. Левинка и устьевом участке р. Параша в 7 биотопах с разным типом водной растительности: тростника обыкновенного, рдеста плавающего, кубышки жёлтой, рдестов + кубышкой жёлтой. В каждом биотопе отбиралось по 3 пробы зоопланктона. Всего было собрано 63 пробы. Отбор и обработка проб проводились общепринятыми в практике гидробиологических исследований методами.

Наибольшим видовым богатством зоопланктона на протяжении летнего сезона характеризовались сообщества рдеста плавающего (48–61 вид), кубышки жёлтой (48–55 видов) и рдестов + кубышки жёлтой (48–55 видов). В сообществе рдесты + кубышка жёлтая был обнаружен редкий вид веслоногого рачка для водотоков Нижнего Новгорода *Macrocyclops distinctus*. Биотопы, лишённые водной растительности, а также сообщество тростника обыкновенного характеризовались относительно низким видовым богатством зоопланктона (23–41 вид). Индекс видового разнообразия Шеннона принимал наибольшие значения в июне в сообществе тростника обыкновенного ($3,38 \pm 0,24$ бит/экз.) и кубышки жёлтой ($3,36 \pm 0,18$ бит/экз.), в июле в сообществе рдеста плавающего ($3,32 \pm 0,06$ бит/экз.) и в августе в сообществах рдеста плавающего ($3,86 \pm 0,09$ бит/экз.) и рдестов + кубышки жёлтой ($3,36 \pm 0,31$ бит/экз.). Заросли высшей водной растительности создают благоприятные условия для развития планктонной фауны. Так, наибольшее количественное развитие зоопланктона было характерно для сообществ рдеста плавающего и рдестов + кубышки жёлтой, где в первом случае зафиксировано увеличение биомассы (с $2,16 \pm 1,74$ г/м³ в июне до $3,62 \pm 1,74$ г/м³ в августе), а во втором – увеличение численности (с $96,04 \pm 6,5$ тыс. экз./м³ в июне до $505,9 \pm 199,8$ тыс. экз./м³ в августе) и биомассы (с $2,24 \pm 0,96$ г/м³ в июне до $10,4 \pm 4,4$ г/м³ в августе). Именно для этого биотопа зафиксировано снижение времени фильтрации воды зоопланктоном от июня ($4,3 \pm 8,2$ сут./м³) к августу ($0,7 \pm 1,6$ сут./м³) и класса качества вод (от умеренно загрязнённых в июне, до чистых вод в августе). В остальных биотопах реки на протяжении всего лета сохранялся, преимущественно, III класс качества вод (умеренно загрязнённые). Участки с отсутствием высшей водной растительности характеризовались низкими значениями численности (до $193,7 \pm 112,3$ тыс. экз./м³) и биомассы (до $0,74 \pm 0,27$ г/м³) зоопланктона.

Таким образом, для зарослей макрофитов р. Левинка характерны сравнительно высокое видовое богатство, видовое разнообразие, количественное развитие зоопланктона и наименьшее время фильтрации воды (т.е. увеличение интенсивности фильтрации). Такие участки служат убежищем для водных беспозвоночных, образуя планктонофонд для всей водной системы, и обладают большим потенциалом к самоочищению. Создание таких участков – один из путей оздоровления и восстановления экологического состояния нарушенных водотоков.

ИЗМЕНЕНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В СЫВОРОТКЕ ЖИВОТНЫХ С ТРАВМАТИЧЕСКИМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ СПИННОГО МОЗГА НА ФОНЕ ГЕННО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Л. Р. Галиева, Э. Р. Санатова, Е. В. Мартынова, Л. Р. Мухаметова, Я. О. Мухамедшина
Казанский (Приволжский) федеральный университет,
420021, Казань, ул. Парижской Коммуны, 11; *Loisa_@mail.ru*

Известно, что при повреждении спинного мозга происходит немедленное высвобождение цитокинов нейронами и глиальными клетками. Различные цитокины могут оказывать как положительное, так и отрицательное влияние. По изменению цитокинового профиля можно судить о влиянии генно-клеточной конструкции на воспалительные процессы после травмы спинного мозга. В данной работе анализировались изменения в содержании цитокинов в сыворотке крови крыс при трансплантации генетически модифицированных мононуклеарных клеток крови пуповины человека (МККП) с целью преодоления последствий травмы спинного мозга.

В качестве модели использовали дозированную контузионную травму спинного мозга крыс на уровне Th8. Животным 1-ой опытной группы после травмы проводили трансплантацию в область повреждения МККП, генетически модифицированных рекомбинантными аденовирусными векторами, кодирующими гены *gdnf* и *vegf*. Животным второй опытной группы проводилась трансплантация МККП, трансдуцированные Ad5-EGFP. Крысам контрольной группы инъекцию клеток после травмы не проводили. Забор крови осуществляли до операции, на 3, 7 и 14 сутки после травмы для проведения мультиплексного анализа по технологии xMAP Luminex.

Изучение цитокинового профиля сыворотки крови экспериментальных животных на разных сроках после травмы не показало достоверного изменения уровня: IL-4, IL-6, IL-13, IL-17 α , G-CSF, LIX. В ходе эксперимента в исследуемых группах были определены достоверные различия по уровням концентраций провоспалительных (MIP-1 α , IL-18) и противовоспалительных (IL-5) цитокинов. Содержание MIP-1 α в контрольной группе на 3 и 7 сутки увеличивалось в 3 и 33 раза соответственно по сравнению с уровнем MIP-1 α у интактных животных. В группе с введением генетически модифицированных клеток на 3 сутки происходило увеличение MIP-1 α в 4 раза, а к 14 суткам показатели возвращались к норме. Повышенный показатель IL-18 был также обнаружен в контрольной группе на 14 сутки после травмы. Различия в количестве IL-5 между группами были найдены на 7 сутки, при этом в группах с генно-клеточной терапией IL-5 на этом сроке возвращался к норме, а в контроле увеличивался. Результаты исследования показали, что используемая генно-клеточная терапия снижает уровень провоспалительных цитокинов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-07527.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕВОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КОМПЛЕКСОВ ХЛОРИНА *E6* С АМФИФИЛЬНЫМИ ПОЛИМЕРАМИ У МЫШЕЙ С РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

А. И. Гаврина^{1,2}, М. В. Ширманова^{1,2}, Н. А. Аксенова³, А. Б. Соловьева³, Е. В. Загайнова¹

¹Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; gavrina.alena@mail.ru

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Институт химической физики РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

Фотодинамическая терапия (ФДТ), как известно, является перспективным методом лечения рака. Фотосенсибилизаторы хлориновой природы эффективны для флуоресцентной диагностики и ФДТ опухолей, однако хлорины обладают высокой гидрофобностью, что делает внутривенное введение проблематичным и влияет на доставку к опухоли и степень поглощения нормальными клетками. Кроме того, агрегация фотосенсибилизатора в водном растворе уменьшает квантовый выход флуоресценции и генерацию синглетного кислорода, а, следовательно, снижает фотосенсибилизирующую активность. Для решения этих проблем было предложено использовать биосовместимые водорастворимые полимеры. Однако особенности и механизмы накопления модифицированных хлоринов в солидных опухолях мало изучены. Цель работы – изучение влияния амфифильных полимеров на фармакокинетику хлорина *e6* методами флуоресцентного биоимиджинга *in vivo* и тканевой экстракции.

Работа выполнена на мышах линии СВА (38 животных) массой 28–32 г. Опухолевая модель – рак шейки матки мышей РШМ–5. Исследовали комплексы хлорина *e6* с поливинилпирролидоном, поливиниловым спиртом, плюронином F108. Немодифицированный хлорин *e6* и используемый в клинике фотосенсибилизатор Фотодитазин использовали в качестве контроля. Препараты вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг. Динамику накопления ФС в опухоли оценивали методом поверхностного флуоресцентного имиджинга *in vivo* на установке IVIS-Spectrum. Абсолютные концентрации ФС в опухолях и нормальных тканях определяли методом тканевой экстракции. Концентрацию препаратов в плазме крови оценивали спектрофлуориметрическим методом в динамике.

Результаты флуоресцентного имиджинга показали, что ни один из полимеров существенно не изменил кинетику флуоресценции в опухоли. Максимум накопления хлорина *e6* в комплексе с полимерами отмечен в период 2–4 часа после инъекции. Концентрация хлорина *e6* в комплексе с полимерами в опухолевой ткани была сравнима с соответствующим показателем для Фотодитазина, а накопление в коже животных было ниже, чем у Фотодитазина, что важно с точки зрения снижения побочных эффектов. В то же время, соотношения опухоль – кожа и опухоль – мышца, отражающие избирательность накопления, для полимерных комплексов были аналогичны свободному хлорину *e6*.

По результатам работы сделан вывод о целесообразности использования полимерных композиций для флуоресцентной диагностики. Планируется их исследование как агентов для ФДТ опухолей.

ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ И ИХ АНАЛОГОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ГОРОХА И ПШЕНИЦЫ

В. В. Гаспирович, Е. Н. Морозова, Л. М. Сурова, Ю. В. Сеницына, В. С. Сухов, В. А. Воденев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
berbendinarius@yandex.ru

Обработка фитогормонами является одним из методов повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных культур. В данной работе проводилось исследование влияния подобной обработки на устойчивость и продуктивность гороха и пшеницы в лабораторных и полевых условиях.

Объектом полевых и лабораторных исследований являлись растения гороха и пшеницы, опрысканные несколькими стрессовыми фитогормонами в различных концентрациях: абсцизовой кислотой, эпибрассинолидом, пирабактином (синтетический аналог абсцизовой кислоты) и эпином (коммерческий препарат на основе эпибрассинолида). В лабораторных условиях использовались проростки 18–24-дневного возраста. Активность фотосинтеза оценивали с использованием системы состоящей из газоанализатора GFS-3000 и РАМ-флуориметра Dual-РАМ 100 (Walz, Германия). Полевые исследования проводили на опытном участке Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии с использованием пирабактина и эпина.

В лабораторных условиях было определено, что опрыскивание проростков гороха и пшеницы достигает максимального биологического эффекта на следующие сутки после обработки, что в основном выражается в снижении уровня ассимиляции углекислого газа и возрастании циклического потока электронов. Активация циклического потока является важной компонентой ответа на стрессовое воздействие у растений, а уменьшение активности темновой стадии может влиять на устойчивость растительного организма. На основании этого было предположено, что обработка фитогормонами может положительно повлиять на устойчивость растения к действию стрессоров. В качестве стрессора был использован получасовой прогрев растений до +48°C (горох) и +45,5°C (пшеница) в воздушном термостате. Анализ полученных данных показал, что предварительное опрыскивание фитогормонами и их аналогами существенно повышает устойчивость фотосинтетических процессов у исследованных растений, в первую очередь это проявляется в более высоком уровне ассимиляции углекислого газа на свету по сравнению с контрольными растениями. На основании результатов лабораторных экспериментов были определены оптимальные концентрации исследуемых соединений для полевых исследований.

Исследования в полевых условиях показали увеличение сохранности растений гороха и пшеницы при обработке фитогормонами. Помимо этого, урожайность пшеницы возросла на 22% при обработке пирабактином, а биологическая урожайность возросла на 28–30% при обработке пирабактином и 19% при обработке эпином. Для гороха характерно повышение биологической урожайности на 30–60%, причем активирующий эффект фитогормонов был связан как с ростом сохранности растений, так и увеличением количества бобов на одном растении.

Таким образом, можно заключить, что опрыскивание фитогормонами растений гороха и пшеницы оказывает положительный эффект на их продуктивность и устойчивость.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №14-26-00098).

ВЛИЯНИЕ КАРБАМИЛИРОВАННОГО ДАРБЭПОЭТИНА (CdEPO) НА ПОВЕДЕНИЕ И ДИНАМИКУ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ИШЕМИЧЕСКОГО ОЧАГА ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШИ В МОДЕЛИ ТРАНЗИТОРНОЙ ОККЛЮЗИИ СРЕДНЕЙ МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ

М. М. Глявина², П. А. Логинов¹, М. С. Муравьева¹, Е. А. Клюев¹, И. В. Мухина^{1,2}

¹Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23/7;
mariyannov@gmail.com

Ишемический инсульт занимает важное место в структуре неврологических заболеваний. Одним из новых направлений в разработке методов нейропротекции при инсульте является использование в качестве терапевтической мишени общей рецепторной субъединицы димерного рецептора (β -cR) к эритропоэтину, обнаруженного не только в эритропоэтических клетках, но и в клетках мозга. В качестве лиганда этого рецептора использовали рекомбинантный белок карбамиллированный дарбэпоэтин (CdEPO) (ООО ФАРМАПАРК, Москва). Целью исследования явилось изучение нейропротекторных свойств CdEPO на модели транзиторной окклюзии средней мозговой артерии. Фокальную ишемию с часовой окклюзией средней мозговой артерии мышей линии C57BL/6 моделировали под общим изофлюрановым наркозом с использованием бинокулярного операционного микроскопа (Carl Zeiss Stemi 2000-C) и микрофиламента 7-0 (Doccol Corporation). CdEPO вводили внутривенно через 6 и 24 часа после ишемии в дозе 50 мкг/кг. Неврологический статус животного оценивали на 4 и 10 сутки по шкалам выраженности неврологического дефицита (Neurological Severity Scores – NSS) и Гарсия (Garcia J.H. et al., 1995). Для оценки сохранности безусловной рефлекторной деятельности и долговременной памяти исследовали поведение животных с помощью теста Open Field LE800S и установки Shuttle Box LE916 (PanLab/Harvard Apparatus). Диффузионно-взвешенные изображения ишемического очага получали с использованием томографа Agilent Technologies DD2-400 9.4 T (400 MHz) с объемной катушкой M2M (H^1) и программным обеспечением PC-SAM, при импульсной последовательности SEMS, толщина срезов составила 1 мм, поле зрения 20x20 мм, ориентация аксиальная. Морфометрические характеристики очага определяли с помощью программы IMAGEJ. Достоверность различий оценивалась по критерию Манна – Уитни.

Часовая транзиторная окклюзия средней мозговой артерии вызывала неврологический дефицит и нарушение в поведении животных в постишемическом периоде на 4 сутки: неврологический статус животных по шкале NSS составлял 4 балла, по шкале Гарсии – 16, снижалась продолжительность вертикальной двигательной активности (ВДА), но повышалась реакция замиранья относительно периода до ишемии ($p < 0,01$). При воспроизведении сформированного рефлекса пассивного избегания наблюдали нарушение долговременной памяти. На 10 сутки неврологический дефицит и изменения в поведении сохранялись. В экспериментальных группах с введением CdEPO на 4 сутки при отсутствии изменений в неврологическом дефиците наблюдалось достоверное увеличение ВДА по сравнению с контрольными группами ($p < 0,01$), значительно снижалась длительность реакции замиранья ($p < 0,01$) и увеличивалось латентное время перехода в темный отсек при тестировании долговременной памяти по сравнению с контрольной группой ($p < 0,04$). Положительное нейропротекторное действие рекомбинантного белка коррелировало с уменьшением очага ишемии на 54% на 4 сутки и на 58% на 10 сутки по сравнению с контрольной группой. Проводимые исследования позволяют рассматривать рецептор к эритропоэтину в мозге терапевтической мишенью, а CdEPO как перспективный нейропротектор с отсутствием стимулирующих эритропоэз свойств.

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАЗМЕЩЕНИЕ И БИОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СООБЩЕСТВ ВОДНЫХ МАКРОФИТОВ СРЕДНЕГО УЧАСТКА МАЛОЙ РЕКИ ЛЕВИНКИ

А. И. Голикова, М. И. Коротаева, И. С. Макеев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
prolila.maslo@mail.ru

Малые водоемы и водотоки промышленного мегаполиса испытывают сильный антропогенный пресс, но имеют важное рекреационное и средообразующее значение. Они являются резерватами биоразнообразия водных, полуводных и околоводных сообществ, служат важным компонентом экологического каркаса города. Водные макрофиты очищают воду от взвешенных органических и минеральных веществ, обогащают её кислородом, препятствуют «цветению» воды, осуществляют аккумуляцию биогенных и токсических веществ. Также заросли макрофитов выступают в роли рефугиумов для многих гидробионтов.

Изучены пространственная и видовая структура сообществ водных макрофитов запруженного участка среднего течения загрязненной малой реки Левинки (Нижний Новгород), проведена оценка их биоиндикационных и биоремедиационных возможностей.

Высшая водная растительность исследуемого участка р. Левинки имеет мозаичный характер, обусловленный как различной скоростью течения и глубиной, так и различием по уровню антропогенной нагрузки. Всего обнаружено 13 видов гидрофитов и гидатофитов. Большинство видов относятся к эвтрофным β -мезосапробам, индикаторам стоячих и малопроточных вод. Исключение – *Potamogeton filiformis* (рдест нитевидный), обычно приуроченный к олиготрофным водоемам и водотокам с песчаным или илистым дном. Доминантами на разных биотопах являются *Nuphar lutea*, *Phragmites australis*, *Potamogeton natans*, *Spirodela polyrrhiza*, указывающие на высокую степень трофии водного объекта.

Предпринята попытка сезонной акклиматизации в р. Левинке водного гиацинта в июне-июле 2015 г. Условия запруженного участка малой реки с высоким уровнем хозяйственно-бытового загрязнения и повышенной гумификацией воды соответствуют экологическим потребностям водного гиацинта. Получены положительные результаты по показателям прироста листовой поверхности и общей фитомассы, а также скорости вегетативного размножения. Несмотря на длинный световой день, наблюдался активный рост и вегетативное размножение. Из высаженных 6 материнских растений с 5 дочерними розетками образовалось 13 новых розеток и 6 самостоятельных раметов с 11 дочерними розетками. Прирост листовой фотосинтетической поверхности составил в целом 3,486 м² (69%) за счет роста начальных 38 и развития 52 новых листьев. Чистая первичная продукция составила 242,2 г, а удельная продукция (П/Б-показатель) – 212%.

Распространение водного гиацинта по акватории в виде биопонтонов активизирует процессы биологического самоочищения. Основной вклад в фиторемедиацию водной массы малой реки вносят аборигенные сообщества гидрофитов: кубышки желтой, рдеста плавающего, многокоренника и тростника. Летняя акклиматизация водного гиацинта в малой реке Левинке позволяет сделать вывод о возможности его использования для усиления биоремедиации загрязненных малых водоемов и водотоков средней полосы России при условии контроля экспериментальных площадок.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЗООПЛАНКТОНА МАЛЫХ РЕК ВЕРХНЕЙ ЧАСТИ НИЖНЕГО НОВГОРОДА (ПО ДАННЫМ 2015 ГОДА)

Д. О. Голубева, И. А. Кудрин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dasha-g2011@mail.ru

Малые водотоки во многом определяют гидрологические и гидрохимические показатели более крупных рек-приемников, а также играют существенную роль в формировании водного режима территорий. Экосистемы водотоков крупных городов испытывают на себе значительное многокомпонентное антропогенное воздействие, при этом малые реки очень уязвимы к загрязнению ввиду небольшого годового стока. Кроме того, малые городские водотоки часто используются населением в рекреационных целях, несмотря на значительную загрязненность их вод и замусоренность берегов. Целью данной работы является характеристика видовой структуры и сезонной динамики сообществ зоопланктона малых рек, протекающих по территории верхней части Нижнего Новгорода.

Материалом для работы послужили 104 пробы зоопланктона, отобранные на восьми постоянных станциях на акваториях рек Старка, Кова и Рахма с 19 мая по 29 сентября 2015 г. Отбор и обработка проб зоопланктона проводились по общепринятым методикам.

В составе зоопланктона рек, протекающих в верхней части Нижнего Новгорода, идентифицировано 43 вида планктонных организмов, из них Rotifera (коловратки) – 18 видов, Cladocera (ветвистоусые ракообразные) – 21 вид, Copepoda (веслоногие ракообразные) – 4 вида. Наибольшее число видов (28) было идентифицировано в р. Старка, наименьшее (21) – в р. Рахма. Сходство видового состава зоопланктона исследованных водотоков, оцененное с помощью индекса Сьеренсена, было низким (0,58–0,62). По экологической приуроченности зоопланктон малых рек Нижнего Новгорода был представлен эупланктонными (58%), фитофильными (32%) и планктобентическими (10%) видами.

Установлено, что сезонная динамика зоопланктона исследованных водотоков характеризуется продолжительными периодами деградации, что выражается в снижении количественных характеристик (численности до 20 экз./м³, биомассы до 0,02 г/м³, числа видов до 1–2), видового разнообразия (индекс Шеннона до 1 бит/экз.) и выравненности. Чаще всего в зоопланктоне малых водотоков верхней части Нижнего Новгорода встречались виды, которые наиболее устойчивы к условиям разнопланового антропогенного воздействия (*Synchaeta pectinata*, *Asplanchna priodonta*, коловратки отр. Bdelloida, науплиальные и копеподитные стадии веслоногих ракообразных).

Таким образом, по комплексу характеристик видовой структуры сообществ зоопланктона исследованных малых рек Нижнего Новгорода их экосистемы можно охарактеризовать как деградирующие, что обусловлено значительным антропогенным прессом. Полученные нами данные могут послужить основой для обоснования и проведения комплекса мер, направленных на оздоровление и реабилитацию экосистем изученных водотоков.

БАКТЕРИЦИДНЫЙ ЭФФЕКТ ПРИМЕНЕНИЯ КРИОКИСЛОРОДНОГО МЕТОДА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНО-ДЕСТРУКТИВНОЙ РАНЫ

А. Д. Горб¹, А. Г. Григорьев², А. А. Миронов^{1, 3}

¹Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603950, просп. Гагарина, 23;
shedell_brog@mail.ru

²Научный клинический центр «Медкриология», Нижний Новгород,
603104, ул. Медицинская, 12

³Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Проблема внутрибольничных инфекций, возникающих в результате оказания медицинской помощи, стоит очень остро во всем мире. Послеоперационные гнойные осложнения развиваются в среднем у 30% больных. Число смертельных исходов в связи с инфекционными осложнениями достигает 40–60%. Это обусловлено различными факторами, в т.ч. определенными трудностями в создании оптимальных концентраций антибиотиков в очаге поражения, снижением иммунной реактивности организма. Растущая устойчивость микрофлоры, снижающая эффективность антибактериальных препаратов является постоянным побудительным стимулом к поиску и экспериментальному обоснованию использования новых высокоэффективных способов местного лечения гнойных ран.

Исследование проводилось на белых крысах-самцах породы «Вистар» 6-месячного возраста. Все оперативные вмешательства проводили в стерильных условиях под общим обезболиванием. Способ моделирования инфицированной раны заключался в формировании подкожного кармана размером 4х6 см, в который помещался фетровый диск, пропитанный суспензией, содержащий 0,5 мл *Staphylococcus aureus* 10⁸. Данный способ обеспечивает получение модели инфицированной кожной раны, которая по своим характеристикам максимально приближена к реальному клиническому течению раневого процесса. Лечение гнойной раны проводилось с использованием антибиотика пefлоксацин (Абактал®, рег № 008768/01) в терапевтической дозе 8 мг/кг 1 раз в сутки в течение 5 дней и криокислородного аэрозоля (ККА), для чего применялся криогенный аппарат «Иней». При работе данного аппарата осуществляется конденсация (сжижение) рабочего газа (воздуха, кислорода, озонированного кислорода) на аппликаторе в ране. Сжиженный рабочий газ выходит из отверстия внутреннего канала канюли аппликатора под давлением пропорциональным давлению подаваемого рабочего газа, которое можно регулировать, что позволяет проводить активную криооксигенацию тканей. Для определения бактерицидной активности проводимого лечения изучали уровень микробной обсемененности кожной раны *S. aureus*. Каждый эксперимент ставили в 3-х повторах. Подсчитывали количество колоний (колониобразующих единиц – КОЕ) *S. aureus* на чашках после термостатирования. Рассчитывали среднее количество КОЕ в нативном материале, учитывая разведение.

После обработки раны криокислородным аэрозолем (ККА) было отмечено существенное снижение концентрации живых *S. aureus* в очаге воспаления в группе 3 (ККА) и в группе 4 (ККА + антибиотик) по сравнению с исходным уровнем. Это указывало на то, что ККА обладает прямым бактерицидным эффектом. Через сутки после первого применения ККА в экспериментальных группах 3 и 4 концентрация бактерий в ране была гораздо ниже, чем в контрольных группах («не леченые», «антибиотик»). Так же было установлено, что скорость снижения контаминации раны *S. aureus* зависит от частоты применения криокислородного аэрозоля: при удлинении времени терапевтического окна скорость очищения раны от бактерий уменьшается.

ОБНАРУЖЕНИЕ И АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ В-ЛАКТАМАЗ *ESCHERICHIA COLI* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Д. А. Горев¹, А. Г. Точилина², А. И. Речкин¹, И. В. Белова², И. В. Соловьева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
DMKJNGRBL07@mail.ru

²Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной
Роспотребнадзора, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Современная тенденция увеличения устойчивости микроорганизмов к действию антимикробных препаратов, подчеркивает актуальность идентификации генетических детерминант антибиотикорезистентности. Одним из основных механизмов резистентности среди энтеробактерий является синтез β-лактамаз — ферментов, разрушающих β-лактамы антибиотиков посредством гидролиза циклической амидной связи в структуре последних.

Целью данной работы явилось разработка алгоритма обнаружения и анализа β-лактамаз типов TEM, SHV, CTX-M, металло-β-лактамаз VIM, NDM, карбапенемаз OXA, KPC среди штаммов микроорганизмов, циркулирующих в стационарах г. Н. Новгорода.

Предметом данного исследования явились гены, кодирующие анализируемые ферменты антибиотикорезистентности. Дополнительно производилась наработка генов «домашнего хозяйства» для дальнейшего проведения MLST *Klebsiella pneumoniae*. Объектом исследования служили свежeweыделенные и лиофильно высушенные штаммы.

С целью уточнения видовой принадлежности исследуемые штаммы идентифицировали методом MALDI TOF масс-спектрометрии. Нарботку генетических детерминант антибиотикорезистентности осуществляли методом полимеразной цепной реакции. Предварительно выделяли ДНК из чистой культуры бактерий методом кипячения. Выделение плазмидной ДНК проводили при помощи коммерческого набора Biosilica PLD-50. Результаты полимеразной цепной реакции регистрировали методом электрофореза в агарозном геле, содержащем бромид этидия. Фрагменты ДНК визуализировали в ультрафиолетовом свете трансиллюминатора.

Идентифицированные методом MALDI TOF масс-спектрометрии штаммы имели неповторимые масс-спектры с определенными пиковыми значениями масс. При исследовании штаммов *Escherichia coli* на наличие blaTEM получены последовательности этих генов длиной 544, 588 и 611 п.н. Анализ сиквенсов этих генов выявил однонуклеотидные замены в 136 и 192 кодонах данных последовательностей по сравнению с референсной (TEM-1), что позволило установить принадлежность выявленных детерминант к новому типу ферментов с заменами – new TEM [L12A I13L P14S G92D]. Детальный анализ резистома 5 культур *K. pneumoniae* в трехкратной повторности позволил установить, что исследуемые штаммы несут детерминанты устойчивости типов CTX-M, TEM, SHV, OXA, KPC, VIM, NDM. Причем детерминанты типа TEM имеют слабую распространенность среди анализируемых штаммов. Структурно схожие плазмидные профили иллюстрируют «обедненность» анализируемых штаммов плазмидами.

Таким образом, в ходе проведенного исследования были проанализированы гены blaTEM нозокомиальных штаммов *E. coli* и установлены особенности резистома штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в стационарах Нижнего Новгорода.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ НЕКОТОРЫХ ЛИШАЙНИКОВ

М. В. Горина

Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева,
443011, Самара, ул. Академика Павлова, 1;
Gorina.mariya2011@yandex.ru

Биологически активные метаболиты лишайников в последние годы изучаются во многих странах мира совместными усилиями биологов-систематиков и химиков, специализирующихся на анализе структуры природных соединений. Этот интерес обусловлен возможностями использования лишайников в качестве источника лекарственных веществ, для которых необходимы расшифровка молекулярной структуры соединений и оценка механизмов влияния на субклеточном уровне, по отношению к различным объектам-биотестам. Одним из методов, широко применяемых в хемосистематике лишайников, является разделение смеси веществ с помощью хроматографии. В данном сообщении представлены предварительные итоги оценки биологической активности (биотестирования) хроматографических фракций вторичных метаболитов лишайников наиболее массовых видов Самарской области – *Parmelia sulcata* и *Xanthoria parietina*.

Пробы талломов лишайников были отобраны в июле 2015 г. в Красносамарском лесном массиве (долина р. Самары, Кинельский р-н, Самарская обл.) с 6 пробных площадей, растительные сообщества которых представляли собой фрагменты естественных лесов – березняков, осинников, липняков. Образцы талломов, очищенные от субстрата и высушенные до воздушно-сухого состояния, вручную измельчали до размера частиц 1–3 мм, навески в 1 г экстрагировали 5 мл ацетона в течение 24 часов. Полученные экстракты наносили на хроматографическую бумагу FILTRAC в виде штриха и разделяли в рекомендованных системах растворителей (Вайнштейн, Раввинская, Шапиро, 1990). Хроматограммы для последующего биопроявления просматривали в видимом свете и УФ-лучах, очерчивая простым карандашом выявленные фракции с разными показателями величины *R_f*. Аналогичные, парные данным хроматограммы использовали для химического проявления фракций. Фракции с лишайниковыми метаболитами, вырезанные из непроявленных хроматограмм, переносили в чашки Петри диаметром 90 мм, где предварительно были выложены бумажные беззольные фильтры. В чашки Петри вносили по 5 мл дистиллированной воды и размещали в непосредственном контакте с кусочками хроматографической бумаги суточные проростки кресс-салата. В серии опытов использовали положительный (с дистиллированной водой и хроматографической бумагой, через которую был пропущен растворитель) и отрицательный (без хроматограммы) контроль. Чашки Петри помещали в термостат ТС 1/80 СТУ на 48 часов, при температуре +24°C.

Хроматографическое разделение показало практически для всех образцов наличие двух фракций со значительным количеством метаболитов (*R_f* 0,28–0,34 и 0,96–0,99). По итогам биотестирования из 12 изученных фракций метаболитов ингибирование роста проростков до 80% от уровня контроля вызвали нижние фракции всего двух проб (пармелия, липняк и ксантория, березняк), слабее ингибировала биотест верхняя фракция пробы ксантория, березняк. Прочие фракции стимулировали рост корневой и побеговой части проростков кресс-салата. Полученный результат может быть связан со слабой растворимостью ацетоном извлекаемых лишайниковых метаболитов в водной среде, что определяет их пониженную доступность для тканей биотеста, а в природных условиях ограничивает вымывание подобных веществ из таллома. Для оценки биологической активности данных веществ необходима дополнительная биотестовая оценка в варианте, который применяется к гидрофобным веществам (с введением в среду небольших концентраций органического растворителя).

ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОСТИ НАВОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА МЕТАНООБРАЗОВАНИЕ

Д. В. Груздева¹, А. Л. Небова¹, Е. С. Соколова¹, Э. Р. Михеева²

¹Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, 603950,
Нижний Новгород, ул. Минина, 24; *Darya.gruzdeva.1994@mail.ru*

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Запасы природного газа постепенно истощаются, поэтому получение метана из альтернативных источников становится актуальной задачей современного мира. Одним из таких источников, важных с точки зрения охраны окружающей среды и возобновления природных ресурсов, являются отходы сельскохозяйственной промышленности. Получение метана из навоза производится посредством анаэробного брожения. На данный процесс оказывают влияние несколько факторов. Целью исследования является изучить влияние влажности навоза крупного рогатого скота (КРС) на интенсивность метанообразования.

Для достижения цели был поставлен опыт со следующими значениями влажности навоза КРС: 88%, 90%, 92% и 94%. Анаэробное брожение проводили в термофильном режиме при температуре +57°C. Исходная влажность навоза КРС составила 77,67±0,29%. В течение эксперимента состав биогаза анализировали на газовом хроматографе GC-2010 Plus (Shimadzu, Япония). На начальном этапе проведения сбраживания (2-4 суток) происходило интенсивное выделение газа, в дальнейшем объем выделяющегося газа уменьшался. На 11 сутки наблюдали уменьшение содержания воздуха во флаконах и увеличение содержания углекислого газа: 45,18±1,78% воздуха и 48,07±1,71% углекислого газа, что свидетельствует об окислении органических веществ навоза КРС кислородом воздуха, находящимся в герметизированном флаконе. На 18 сутки в реакторе с влажностью 92% начал образовываться метан в количестве 0,819%. На основании полученных данных можно сделать вывод, что влажность навоза крупного рогатого скота оказывает влияние на интенсивность метанообразования. Оптимальная влажность составляет 92%.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (НИИ химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского).

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЭХОЛОКАЦИЯ МЯГКИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Д. А. Гундырев, И. Ю. Демин

Университет Лобачевского, радиофизический факультет, 603950, Нижний Новгород,
просп. Гагарина, 23/4; *danx3@mail.ru*

В настоящей работе представлены результаты ультразвукового исследования (УЗИ) мягких биологических тканей (желатиновые фантомы и ткани животного происхождения) и биологических жидкостей (солевые растворы и искусственные заменители крови) с целью определения скорости распространения ультразвуковых волн.

Все измерения выполнены на лабораторной установке для импульсной эхолокации, которая расположена в лаборатории «Биомедицинских технологий, медицинского приборостроения и акустической диагностики (МедЛаб)» (кафедра акустики радиофизического факультета ННГУ им. Н.И. Лобачевского). Установка представляет собой аппаратно-программный комплекс, состоящий из персонального компьютера, блока управления, формирования и обработки сигналов, набора акустических датчиков, механической системы точного перемещения датчиков над объектом исследований, емкости (аквариума) для размещения объектов исследований.

Рассмотрены излучатели ультразвука с рабочими частотами 2,5 МГц и 5 МГц, данный диапазон частот активно используется в УЗИ для медицинской диагностики. Основная идея метода определения скорости ультразвука в неоднородных средах и структурах заключается в различиях акустического импеданса между слоями таких сред, что и позволяет по отраженным импульсам определить не только скорость распространения волны, но и «визуализировать» среду. В таких случаях говорят, что мягкие ткани прозрачны для акустической волны. Данное свойство используется в медицинской диагностике для построения В-сканов тканей.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (15-42-02586).

МНОГОЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ СТРУКТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МАКРОЗООБЕНТОСА ЮЖНОГО КАСПИЯ В ЛЕТНИЙ ПЕРИОД (2010–2015 ГОДЫ)

Д. С. Даирова, Т. А. Кострыкина, И. В. Богучарова

Каспийский НИИ рыбного хозяйства, 414056, Астрахань, ул. Савушкина, 1;
dairova3110@mail.ru, kostrykina.t@mail.ru

Материалом для исследований послужили сборы макрозообентоса, проведенные на акватории Южного Каспия (разрез о. Куринский Камень – о. Огурчинский) в летний период 2010–2015 гг. В составе донной фауны было обнаружено 43 вида и формы донных беспозвоночных. Число встречаемых таксонов в отдельные годы варьировало от 17 до 27, индекс Шеннона-Уивера колебался в пределах 2,43–3,46 бит/экз. Видовую структуру зообентоса в течение рассматриваемого периода представляли донные беспозвоночные из 7 классов: Polychaeta, Oligochaeta, Nematoda, Hirudinea, Crustacea, Bivalvia, Insecta. Среди них наиболее разнообразной была группа ракообразных (от 11 до 20 таксонов), которая, определяла облик донных сообществ Южного Каспия. Видовой состав ракообразных, как в целом по разрезу, так и на отдельных станциях, был богаче по сравнению с другими группами беспозвоночных, что связано с их активным передвижением и широкой биотопической пластичностью многих видов и форм Crustacea.

На протяжении всего периода исследований из обнаруженных донных организмов широкое распространение на станциях исследуемой акватории имели малощетинковые черви (95%). Высокая частота встречаемости (50–72%) была зарегистрирована у многощетинковых червей (*Hediste diversicolor*, *Hypaniola kowalewskii*, *Manayunkia caspica*), кумовых раков (*Stenocuma diastylodes*, *Schizorhynchus eudorelloides*), корофиид (*Corophium mucronatum*, *C. chelicorne*), усоногих раков *Balanus improvisus*.

По отношению к солености донная фауна Южного Каспия была представлена всеми экологическими группами, при преимущественном доминировании таксонов морского генезиса (35–54%). Преобладание представителей морского комплекса обусловлено тем, что в эту группу входят виды и формы не только автохтонной фауны, но и средиземноморско-атлантической и арктической фаун. Субдоминирующее положение занимали организмы солоноватоводного (17–35%) и слабосоленатоводного (15–24%) комплексов. Число видов пресноводного происхождения варьировало от 6 до 13%.

Количественные показатели донной фауны в течение исследуемого периода варьировали в широком диапазоне. Так, общая численность бентонтов колебалась в пределах от 1,26 тыс. экз./м² (2015 г.) до 7,35 тыс. экз./м² (2010 г.), биомасса – от 6,11 г/м² (2014 г.) до 182,33 г/м² (2010 г.). В среднем суммарная плотность донных организмов составила 3,79 тыс. экз./м², а биомасса – 43,18 г/м². Характер варьирования данных величин зависел от степени генерации и развития доминирующих таксонов многощетинковых и малощетинковых червей, кумовых рачков (*S. diastylodes*), бокоплавов (*Chaetogammarus pauxillus*), корофиид (*C. mucronatum*, *C. nobile*, *C. chelicorne*) и усоногих рачков (*B. improvisus*).

Численность и биомасса «кормовых» организмов в среднем по разрезу составили 3,20 тыс. экз./м² и 9,61 г/м² соответственно. Данные показатели были ниже величин общей численности (3,79 тыс. экз./м²) и особенно биомассы (43,18 г/м²), т.к. в «кормовой» бентос не вошли доминировавшие (преимущественно в западной части разреза) морские желуди *B. improvisus*, на долю которых приходилось 74% от общей биомассы, а также двустворчатые моллюски, размерный ряд которых превышал 15 мм. Кроме того, такое различие между «кормовой» биомассой и биомассой бентоса в целом было обусловлено также эколого-фаунистическими особенностями донных беспозвоночных.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ АДЕНОВИРУСНОГО ВЕКТОРА ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ И ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

А. В. Данилюк¹, С. В. Киселева¹, Б. В. Белугин², О. В. Зубкова²

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23; *sw.kiselewa@yandex.ru*

²Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

При лечении сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемия, инфаркты и инсульты, используются ангиогенные факторы (VEGF, angiogenin), для доставки которых применяют различные векторные системы, в том числе рекомбинантные аденовирусные векторы. Аденовирусные вектора широко используются в профилактике и лечении различных заболеваний, так как они способны проникать как в делящиеся, так и в неделящиеся клетки и при этом их ДНК не встраивается в геном клетки-хозяина. Также эти аденовирусные векторы обеспечивают высокий уровень экспрессии терапевтического гена в клетках органа. Эффективность, токсичность и безопасность аденовирусных векторов при внутримышечном и внутривенном введении различается из-за биораспределения и последующей трансдукции терапевтических генов. Цель нашей экспериментальной работы – сравнить биораспределение аденовирусных геномов в различных тканях и органах после внутримышечного и внутривенного введения.

В качестве модельного объекта для работы была использована линия мышей СВА, которой был введен препарат аденовирусного вектора со встроенным геном VEGF в дозе 10^7 БОЕ на особь. Для определения количества аденовирусной ДНК производили отбор следующих органов и биологических жидкостей: мышцы в месте введения препарата, сердце, печень, селезенка, нижние лимфатические узлы и кровь.

Из отобранных органов ДНК выделяли коммерческим набором Wizard Genomic DNA Purification Kit и определяли количество аденовирусных геномов методом ПЦР в реальном времени. Данные по количеству геномов нормировали по калибровочным кривым серийного разведения аденовирусной ДНК.

Полученные данные указывают на то, что при внутримышечном введении аденовирусная ДНК была найдена только в мышечной ткани, в остальных органах обнаруживались следовые количества. Тогда как при внутривенном введении картина биораспределения была следующая. В печени, селезенке и легких содержание аденовирусной ДНК было значительно высоким, в легких, нижних лимфатических узлах и сердце было отмечено небольшое количество аденовирусов, а в крови и мышцах – не обнаружено.

Таким образом для применения аденовирусных векторов с терапевтическими генами VEGF, angiogenin целесообразно будет внутримышечное введение.

РАЗВИТИЕ ЗООПЛАНКТОНА ЮЖНОГО КАСПИЯ В 2014–2015 ГОДАХ

Т. Н. Дедикова, О. Е. Егорова

Каспийский НИИ рыбного хозяйства, 414056, Астрахань, ул. Савушкина, 1;
kaspiy-info@mail.ru

Характеристика зоопланктона дается на основе материала, собранного в Южном Каспии на разрезе о. Куринский Камень – о. Огурчинский в июне 2014 и 2015 гг. Методика сбора и обработки материала была общепринятой.

Видовая структура зоопланктона в 2015 г. была представлена видами, относящимися к Copepoda, Cladocera, Rotatoria, Stenophora. Кроме основных групп, в зоопланктоне присутствовали временно планктонные формы: личинки бентических животных *Bivalvia* и *Cirripedia*. К числу прочих организмов относились Mysidacea, Cumacea, а также личинки и икра рыб. Качественное разнообразие планктона насчитывало 10 видов и форм беспозвоночных против 13 в 2014 г. Число видов беспозвоночных рассматриваемого разреза сократилось за счет Cladocera и Rotatoria.

На всей исследуемой акватории доминирующее положение, как и в предыдущие годы, занимали веслоногие рачки, среди которых лидировала *Acartia tonsa* (66% общей численности и 65% биомассы). Второстепенное значение в формировании общей численности и биомассы зоопланктона имели усногие раки (18%). Средняя сумма обрастателей по сравнению с прошлогодними показателями уменьшилась в 1,3 раза. У *Cirripedia* преобладали ципривидные личинки (203,9 экз./м³ и 2,45 мг/м³).

Доля ветвистоусых ракообразных составляла 12% от общей биомассы зоопланктона, что в 1,5 раза больше, чем в 2014 г. В группе Cladocera доминировал *Pleopis polyphemoides* (90% от общего числа видов в группе). В небольших количествах присутствовали виды рода *Evadne*, единично регистрировался *Podon intermedius*. Коловратки в составе разреза были представлены одним видом – *Synchaeta pectinata*. Количественные характеристики Rotatoria, так же, как и в 2014 г., в составе планктона были незначительными. Развитие личинок моллюсков проходило на низком уровне и не превышало 3% от общего числа, в 2014 г. этот показатель был равен – 1%. Количество вселенца *Mnemiopsis leidyi* (Stenophora) в период исследований равнялась 0,3%, что в 2 раза больше, по сравнению с 2014 г. В целом, средние показатели численности и биомассы зоопланктона в 2015 г. составляли 1494,3 экз./м³ и 11,01 мг/м³, против 1523,8 экз./м³ и 12,84 мг/м³ в 2014 г.

Рассматривая развитие зоопланктона в зависимости от района и глубинных зон, можно отметить, что более высокие количественные показатели характерны для восточной части разреза, с глубинами, не превышающими 200 м (3,8 тыс. экз./м³ и 25,25 мг/м³). Наиболее обедненным был центральный глубоководный район, где средние количественные показатели водных беспозвоночных составили 551 экз./м³ и 4,7 мг/м³. В составе зоопланктона в исследуемых районах преобладали веслоногие рачки. Максимальное развитие зоопланктона, как и в предыдущие годы, наблюдалось в слое 10–25 м. Основная концентрация биомассы планктона наблюдалась до глубины 100 м.

Таким образом, оценивая зоопланктон на акватории разреза о. Куринский Камень – о. Огурчинский, можно сделать вывод, что видовое разнообразие существенно не изменилось, по сравнению с прошлым годом. Количественные показатели зоопланктона находились на уровне 2014 г. Доминирующее положение при формировании как численности, так и биомассы зоопланктона, занимали веслоногие ракообразные, в частности вид *A. tonsa*.

СОЗДАНИЕ ДВУХФОТОННОГО ЛАЗЕРНОГО МИКРОСКОПА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В НЕЙРОБИОЛОГИИ

М. С. Доронин¹, А. В. Попов^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, НИИ нейронаук, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
doronin@neuro.nnov.ru

²Волжский государственный университет водного транспорта, 603950, Нижний Новгород,
ул. Нестерова, 5

На сегодняшний день одной из основных областей применения мультифотонной микроскопии является биология. Это связано с возможностью получения трёхмерных изображений тканей с более высоким разрешением в сравнении с конфокальной микроскопией (латеральное 290 нм, аксиальное 500 нм) и способностью визуализации на большей глубине (вплоть до 1 мм). Важной особенностью является возможность детектирования низкого уровня флуоресценции образцов, тогда как повышение интенсивности лазерного излучения может привести к перегреву ткани и выгоранию образца. Методы сканирования образца с течением времени меняются, в связи с чем необходима их модернизация. Создание собственной двухфотонной системы микроскопии с учётом особенностей использования в нейробиологии является, возможно, самым оптимальным решением для простой, быстрой и достаточно бюджетной (в сравнении с коммерчески доступными аналогами) модернизации микроскопа.

Для создания микроскопа была разработана трёхмерная модель микроскопа с использованием ПО Компас. Основой модели служит рама микроскопа, крепящаяся к антивибрационному столу, а также оптические элементы, зафиксированные на основной раме. В модели микроскопа реализованы три вида оптического пути – для реализации работы дифференциально-интерференционного контраста, гальванометрического сканера, а также резонансного гальванометрического сканера. При наличии двух сканеров можно выбрать свой режим сканирования (с использованием двух импульсных фемтосекундных лазеров) для каждого из сканеров. Стоит отметить, что резонансный сканер в силу особенности принципа своей работы может быть использован только для сканирования прямоугольной области. Гальванометрический же сканер благодаря возможности управления положением лазерного луча в каждый момент времени может быть использован для разных режимов сканирования как для сканирования прямоугольной области, так и для сканирования по линии или в точке, а также для фотоактивации (анкейджинга), в частности, глутамата. Для детектирования флуоресцентного сигнала используются фотоэлектронные умножители, которые устанавливаются в непосредственной близости от апертуры объектива. В разработанной конфигурации луч флуоресценции попадает на детекторы, которые находятся на перемещаемой (фокусирующей) части микроскопа в непосредственной близости от апертуры объектива. Конструкция микроскопа предусматривает также возможность демонтажа части конструкции для возможности проведения экспериментов *in vivo*, в том числе с использованием устройств дополненной реальности (шар, платформа и т.п.). Управление системой микроскопии осуществляется при помощи самостоятельно разработанного ПО на базе пакета Matlab.

Таким образом, создание такой системы с учетом указанных особенностей позволяет снизить затраты и увеличить качество методов, а также получать данные при исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo*. За счёт оптимального расположения фотоумножителей флуоресценция от активированных объектов улавливается оптимально, что позволяет качественно визуализировать объект и не приводит к перегреву и выгоранию образца.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований, проекты №16-34-00961, № 14-04-00901\16.

ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕЙ В МИТОХОНДРИЯХ ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫЙ СЕНСОР ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА HUPER

А. А. Досаева, Н. Н. Пескова, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anastasiya-dosaeva@yandex.ru

К настоящему времени накопилось достаточно данных, на основании которых можно утверждать о сигнальных функциях кислорода, которые осуществляются через его активные формы (АФК). Основным местом продукции АФК в клетках человека является дыхательная электронтранспортная цепь. До недавнего времени изучение продукции АФК в живых системах в режиме реального времени было невозможным, поскольку отсутствовали подходящие методы. Многие проблемы были решены благодаря созданию генетически кодируемых сенсоров на основе флуоресцентных белков. Huper является первым флуоресцентным генетически кодируемым сенсором белковой природы, который позволяет регистрировать динамику изменения H_2O_2 на уровне целого организма, клетки или отдельного клеточного компартмента. Реакция Huper является обратимой и специфичной для H_2O_2 . В отсутствие H_2O_2 , он имеет два пика возбуждения флуоресценции (420 и 500 нм). При появлении H_2O_2 , происходит пропорциональное уменьшение пика на 420 нм и увеличение пика на 500 нм, и наоборот.

В рамках работы нами была получена линия клеток с экспрессией сенсора Huper в митохондриях клеток. Для достижения данной цели клетки линии А-431 (эпидермоидная карцинома человека) были трансфицированы плазмидой pHuper-dMito, содержащей ген флуоресцентного белка Huper, слитого с сигналом локализации в митохондриях (VIII субъединица цитохром с-оксидазы), под контролем CMV-промотора и имеющей ген устойчивости к антибиотику. Трансфекция проводилась методом липофекции. Отселектированная на среде с антибиотиком культура клеток была отсортирована на оптическом проточном цитофлуориметре-сортере Aria III. Популяции клеток с максимально яркой флуоресценцией в зеленом диапазоне спектра (от 515 до 545 нм), соответствующей спектру белка Huper, были отобраны для дальнейшего культивирования. На заключительном этапе была получена моноклональная линия, для которой подтверждено сохранение флуоресценции в течение 15 пассажей, а также процедуры заморозки/разморозки культуры.

Для полученной стабильно трансфицированной линии клеток А431-Huper-mito определены параметры ростового цикла. В предварительных экспериментах с использованием А431-Huper-mito показана возможность мониторинга содержания в клетке пероксида водорода в режиме реального времени при фотодинамическом воздействии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (договор № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проекты 16-04-01676 и 16-34-00772).

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ω -ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА Ca^{2+} -ЗАВИСИМУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

М. В. Дубинин, А. Е. Степанова, А. Н. Рыбакова, В. Н. Самарцев

Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
dubinin1989@gmail.com

В последнее время большое внимание уделяется изучению влияния свободных жирных кислот и их метаболитов как индукторов неспецифической проницаемости биологических и искусственных мембран, которая значительно усиливается в присутствии Ca^{2+} . Ранее нами было показано, что α, ω -дикарбоновые кислоты способны индуцировать Ca^{2+} -зависимую пермеабиллизацию митохондрий и липосом. Предполагается, что в основе этого явления лежит механизм слияния и/или агрегации мембран. Известно, что в ряде случаев может наблюдаться увеличение содержания продуктов ω -окисления в сыворотке крови, поэтому можно предположить, что в первую очередь их влиянию будут подвергаться не митохондрии, а цитоплазматическая мембрана клеток.

В настоящей работе нами изучено влияние промежуточного и конечного продуктов ω -окисления монокарбоновой пальмитиновой кислоты – 16-гидрокси-пальмитиновой (ГПК) и α, ω -гексадекандикарбоновой (ГДК) кислот как индукторов Ca^{2+} -зависимой неспецифической проницаемости мембраны эритроцитов. Установлено, что добавление ГДК и Ca^{2+} к суспензии эритроцитов, также как в случае с пальмитиновой кислотой, приводит к снижению количества живых клеток. Подобный эффект наблюдается и в случае добавления ГПК и Ca^{2+} . Эффект ГДК в присутствии Ca^{2+} сопровождается гемолизом эритроцитов и выходом из них ионов калия, поэтому можно полагать, что в данном случае наблюдается индукция неспецифической проницаемости цитоплазматической мембраны клеток. Однако ГДК как индуктор Ca^{2+} -зависимой проницаемости эритроцитов по своей эффективности существенно уступает пальмитиновой кислоте. В то же время ГПК в присутствии Ca^{2+} практически не индуцировала пермеабиллизацию мембраны эритроцитов. Микроскопические исследования выявили, что снижение количества живых клеток при добавлении ГДК или ГПК, а также Ca^{2+} к суспензии эритроцитов обусловлено агрегацией клеток, что соответствует результатам, полученным на липосомах.

Таким образом, можно полагать, что при повышении уровня метаболитов ω -окисления жирных кислот в сыворотке крови, которое имеет место при ряде патологий, могут наблюдаться процессы агрегации эритроцитов вследствие изменения их поверхностных свойств, что приводит к нарушению процессов микроциркуляции и, в конечном счете, к их гибели.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-00688), Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365), а также Стипендии Президента РФ (СП-1016.2016.4).

ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗУ ПОЧЕК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. И. Дударь¹, И. И. Непряхина¹, А. Г. Соловьева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
aid-queen@rambler.ru

²Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр,
603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18/1

В проведенных ранее исследованиях показано, что динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) ингибируют активность такого фермента биотрансформации альдегидов, как альдегиддегидрогеназа. Известно, что тетурам, в свою очередь, так же является ингибитором альдегиддегидрогеназы. Благодаря наличию в его молекуле химической группы R₂NCS₂ он легко может вступать в реакцию с ионами металлов с образованием комплексных соединений. Согласно литературным данным, после введения крысам тетурама, активность АлДГ в митохондриальной фракции печени животных начинает снижаться через 2 часа, достигая максимума к 16–40 часам от начала введения препарата. Тетурам, блокируя активность альдегиддегидрогеназы, тормозит процесс превращения ацетальдегида в уксусную кислоту. Целью работы явилось выяснение возможного механизма действия депонированной формы оксида азота – динитрозильных комплексов железа – на активность альдегиддегидрогеназы почек крыс.

Эксперимент выполнен на белых крысах – самцах линии Wistar. В опытах *in vitro* использовали 10%-ый гомогенат почек на основе среды, содержащей 0,25 М раствор сахарозы, 0,01 М трис-НСI-буфер (*pH*=7,5). Проведено 4 серии исследования: 1 – контроль – гомогенат, к которому добавляли физиологический раствор; 2 – гомогенат + тетурам; 3 – гомогенат + ДНКЖ; 4 – гомогенат + тетурам + ДНКЖ.

Раствор тетурама готовили следующим способом: 300 мг тетурама растворяли в 3 мл физиологического раствора, взвесь центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 минут, использовали надосадочную жидкость. Динитрозильные комплексы железа с глутатионом получали по методике А. Ф. Ванина (1998), смешивая 300 мМ NaNO₂, 200 мМ восстановленный глутатион и раствор FeSO₄. Концентрацию ДНКЖ определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Power Wave XS (Bio-Tek, USA) в диапазоне длин волн 410–700 нм.

Активность альдегиддегидрогеназы определяли по методу Б. М. Кершенгольц, Л. П. Ильиной (1981). Концентрацию белка вычисляли по методу Лоури в модификации. Результаты исследований обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента. Обработку данных осуществляли с помощью программы BIOSTAT. При расчете *t*-критерия Стьюдента применяли поправку Бонферрони.

Показано, что после введения тетурама активность АлДГ снижалась на 27%, после введения ДНКЖ – на 23% по сравнению с контролем, в который вводили физиологический раствор. Предварительное введение тетурама, блокатора SH-групп, перед введением динитрозильных комплексов железа увеличивало активность АлДГ по сравнению с введением тетурама на 42%.

В проведенных опытах тетурам действительно снижал активность АлДГ. В результате чего можно предположить, что ДНКЖ, содержащие глутатион, взаимодействуют с сульфгидрильными группами АлДГ. Сульфгидрильные группы ДНКЖ легче вступают в реакцию с тетурамом. Вследствие чего динитрозильные комплексы железа нейтрализуют действие тетурама, что в конечном итоге и приводит к снижению его ингибирующего эффекта по отношению к АлДГ.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ГРИБОВ

М. Ю. Евлева, А. В. Васильев, В. В. Заболотских

Самарский государственный технический университет,
443100, Самара, ул. Молодогвардейская, 244; rector@samgtu.ru

Получение экологически чистой продукции является актуальной задачей на современном этапе развития пищевого и сельскохозяйственного производства. Особую значимость это направление приобретает в условиях химизации сельского хозяйства, применения опасных ядов на полях, сомнительного качества продуктов в супермаркетах, проблемы повышенного содержания в продуктах нитратов, нитритов, ГМО и консервантов. Для решения проблемы обеспечения безопасности продуктов питания и сохранения здоровья человека необходимо развивать технологии по выращиванию экологически чистых пищевых продуктов с ценными питательными свойствами. В связи с этим наше внимание было привлечено к поиску и развитию методов выращивания экологически чистых грибов.

Цель проекта получение экологически чистой продукции на основе разработки технологического комплекса по выращиванию мицелия и плодовых тел грибов. Задачи: 1) провести анализ существующих методов и технологий выращивания грибов; 2) разработать технологический комплекс для культивирования и выращивания грибов вешенки (*Pleurotus ostreatus*) и шампиньонов (*Agaricus bisporus*); 3) разработать инженерно-технические решения для процесса обеззараживания мицелия с помощью УФ-облучения и создания культиватора для выращивания мицелия в оптимальных условиях; 4) разработать и экспериментально исследовать различные составы питательных субстратов (смесей) с биоактивными добавками для выращивания плодовых тел грибов; 5) провести эколого-экономический расчёт эффективности разработанного технологического комплекса.

В результате данной работы были разработаны технические и технологические решения по культивированию и выращиванию грибов. Особенностью культивирования является создание условий для обеззараживания, которые создавались с помощью УФ-облучения в период посева материала на питательные среды. Разработана конструкция инкубатора для выращивания мицелия с подогревом и автоматическим контролем температуры. Разработана технологическая схема выращивания плодовых тел грибов на разных субстратах. Проводятся экспериментальные исследования влияния составов субстратов на рост, урожайность и качество грибов. Готовится заявка на патент на экспериментально апробированный субстрат «ECOFOOD for mushrooms» для выращивания плодовых тел грибов из мицелия. Предварительный эколого-экономический расчёт показал полную окупаемость проекта за 1,7 года. Достоинством проекта является безотходность технологического комплекса и образование вторичных ресурсов для повторного использования.

СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ мРНК ИЗОФОРМ MUC1 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ И РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т. С. Егорова¹, Н. Н. Гурина¹, С. Г. Фомина¹, Д. В. Новиков¹, Л. Б. Луковникова¹,
Р. Г. Пегов³, Н. В. Голубцова², В. В. Новиков¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tanushkaegorova.25@gmail.com

²Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва

³Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

Муцин 1 (MUC1, так же известный как episialin, PEM, H23Ag, EMA, CA15-3 или MCA) – трансмембранный гликопротеин 1-го типа, принимающий участие в формировании слоя полисахаридов на поверхности эпителиальных клеток. MUC1-полиморфная молекула состоит из сильно гликозилированного внеклеточного домена, трансмембранного домена и цитоплазматического хвоста. В раковых клетках наблюдается гиперэкспрессия MUC1, изменение его локализации и гликозилирования, а также образование множества изоформ мРНК в результате альтернативного сплайсинга. Основным продуктом гена MUC1 является классическая изоформа MUC1-Rep. Известно образование полноразмерных изоформ – MUC1-A, B, C, D. Группа изоформ, лишенных VNTR-региона – MUC1-X, Y, Z, увеличивает онкогенный потенциал клетки и связана с неконтролируемым клеточным ростом. В изоформе MUC1-Seq отсутствует трансмембранный регион. MUC1-Seq вызывает избыточную экспрессию цитокинов. Целью данной работы явилась оценка частот обнаружения изоформ мРНК MUC1 в карциномах толстой кишки и молочной железы.

Исследовали частоты обнаружения 9 сплайс-вариантов MUC1: A, B, C, D, Z, Y, Z, MUC1-Rep, MUC1-Seq в опухолевых очагах молочной железы и толстой кишки. Использовали 40 образцов опухолевых очагов рака молочной железы, предоставленных Российским онкологическим научный центром им. Н.Н. Блохина, и 58 образцов опухолевых очагов рака толстой кишки, предоставленных Нижегородской областной больницей им. Н.А. Семашко. Методом ОТ-ПЦР выявляли три группы изоформ мРНК MUC1 с использованием специфичных праймеров. В первую группу входили изоформы мРНК MUC1 с добавлением лишних аминокислот в N терминальную часть белка (MUC1-A, B, C, D). Вторая группа содержала изоформы с выпадением аминокислот из региона тандемных повторов (MUC1-X, Y, Z). Третья группа содержала изоформу без трансмембранного региона (MUC1-Seq) и классическую форму мРНК (MUC1-Rep). Результаты реакции оценивали электрофорезом нуклеиновых кислот в агарозном геле в присутствии бромида этидия. В качестве внутреннего контроля качества использовали мРНК β 2-микроглобулина.

В опухолевых очагах рака молочной железы экспрессия альтернативных форм мРНК MUC1 первой группы отмечалась в 84% образцов (27 из 32), мРНК второй группы выявлена в 25% образцов (8 из 32), экспрессия мРНК MUC1-Rep регистрировалась в 62,5% образцов (20 из 32), а мРНК MUC1-Seq детектировалась во всех исследованных образцах. В опухолевых очагах рака толстой кишки экспрессия мРНК MUC1 была обнаружена в 44 из 58 образцов опухоли. Установлено, что экспрессия альтернативных форм мРНК MUC1 первой группы наблюдалась в 34% образцов (15 из 44), мРНК второй группы выявлены в 9% образцов (4 из 44), экспрессия мРНК MUC1-Rep регистрировалась в 39% образцов (17 из 44), а мРНК MUC1-Seq детектировалась в 77% исследованных образцов (34 из 44).

При сравнении экспрессии мРНК изоформ MUC1 выявлено, что доминирующей изоформой в опухолевых очагах рака молочной железы и толстой кишки является изоформа MUC1-Seq, кодирующая растворимую форму белка MUC1. мРНК мембранных форм MUC1 обнаруживались в опухолевых очагах рака толстой кишки в среднем в два раза реже, чем в карциномах молочной железы.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ДЕРМАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ ЧЕЛОВЕКА

В. В. Ермакова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Psichorette@gmail.com

Среди современных направлений лечения поражений кожи последних десятилетий перспективным направлением стало использование культивированных клеток кожи для восстановления раневых дефектов. Пересаженные фибробласты синтезируют компоненты межклеточного матрикса дермы, активизируют пролиферацию собственных фибробластов реципиента и синтезируют медиаторы межклеточных взаимодействий. Сегодня фибробласты рассматривают, как клетки, приближенные по потенциальным возможностям к мезенхимальным стромальным клеткам. Имеются данные о возможности влияния низкоинтенсивных физиотерапевтических воздействий на скорость миграции, пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток. Цель работы – исследование влияния терапевтических доз некоторых физических факторов на дермальные фибробласты человека *in vitro*.

В качестве тестовой культуры использовали дермальные фибробласты человека 4–5 пассажа, которые подвергали воздействию некогерентного поляризованного полихроматического света или бегущего импульсного магнитного поля в терапевтических дозах. Для оценки состояния культуры после однократного и многократного воздействия определяли изменение пролиферации клеток, фенотип клеток культуры, изменение в динамике уровня одного из основных компонентов межклеточного матрикса – фибронектина и одного из факторов роста – TGF- β . Контрольные точки исследования: 48, 72 и 96 часов после воздействия. Изменение концентрации клеток в процессе роста подсчитывали с помощью камеры Горяева. Фенотип определяли методом цитофлюориметрии. Уровень фибронектина и TGF- β определяли методом ИФА.

Не фиксировались достоверные изменения пролиферации в опытных группах по сравнению с контрольными. Клетки культуры экспрессировали на поверхности типичные для мезенхимальных клеток рецепторы CD90, CD105, CD44, CD10, CD73, CD13 и были отрицательны по маркерам гемопоэтических клеток, как в начале эксперимента, так и после его окончания, и выраженность экспрессии не менялась. Содержание фибронектина и TGF- β в ростовой среде равномерно нарастало в процессе роста без достоверных отличий между опытными и контрольными группами.

Показано, что отрицательное влияние некогерентного поляризованного полихроматического света или бегущего импульсного магнитного поля на культуру дермальных фибробластов человека отсутствует. Установлено, что изменения уровня фибронектина и TGF- β в ростовой среде под действием физических факторов не происходило.

СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСФОРМАЦИИ СЕМЯН ТАБАКА *IN PLANTA*

А. А. Ермошин, С. А. Шатунова

Уральский федеральный университет, 620000, Екатеринбург, просп. Ленина, 51;
ermosh@el.ru

Традиционные биотехнологические подходы к получению трансгенных растений требуют продолжительного времени, трудоемки и дороги: при трансформации эксплантов необходима стерильность, для регенерации растений используют фитогормоны, а для повышения частоты трансформации – ацетосерингон, который токсичен для растений.

Альтернативным вариантом является трансформация *in planta*, например, трансформация семян. Этот метод позволяет миновать стадию клеточных культур, что ускоряет процесс получения трансгенов, позволяет отказаться от фитогормонов и устраняет соматическую вариабельность. Однако неповрежденные ткани и органы растений, трудно заражаются агробактериями, поэтому необходимо усиливать экспрессию генов вирулентности и облегчать проникновение агробактерий в растение. Существуют способы трансформации семян с использованием углеводов и детергентов.

В нашей работе семена табака трансформировали с помощью культуры агробактерий штамма СВЕ21, содержащих бинарный вектор рSS, несущий ген устойчивости к канамицину. Штамм и плазида любезно предоставлены В. В. Алексеевой (ФИБХ РАН).

Использовали суспензию агробактерий в среде MS и в среде MS с добавлением 100 мкМ ацетосерингона (контроль), в опытном варианте в среду для ресуспензирования семян добавляли глюкозу (300 мг/л), ксилозу и маннозу (по 150 мг/л) как активаторы *Vir*-генов и Твин-20 (0,005%) для облегчения проникновения агробактерий в семена. Трансформацию оценивали по сохранению проростками зеленой окраски на среде с канамицином (100 мг/л).

Через 40 дней культивирования проростков на селективной среде было обнаружено, что в варианте без использования активаторов все растения погибли. В варианте с ацетосерингоном частота трансформации составила 7%, а при использовании смеси углеводов и детергента – 20%. Таким образом, в результате нашей работы была показана возможность трансформации неповрежденных семян растений табака. При этом замена ацетосерингона на смесь растворимых сахаров и сахароспиртов и детергентов повышала частоту трансформации в 2,9 раза. Время, необходимое для получения трансгенных линий, уменьшалось до одного месяца.

ЗООПЛАНКТОЦЕНОЗЫ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «ОЗЕРО ВОРСМЕНСКОЕ (ТОСКАНКА)» (НИЖЕГОРОДСКОЕ ПОВОЛЖЬЕ)

В. С. Жихарев, М. Ю. Ильин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

slava.zhiharev@ro.ru

Мониторинг водных объектов особо охраняемых природных территорий является крайне важной задачей с точки зрения сохранения типичных экосистем и их биоразнообразия. Памятник природы регионального значения «Озеро Ворсменское (Тосканка)» – крупный водоем (178 га), расположенный в карстовой котловине малой р. Кишмы (71 км) в окрестностях города Ворсма (Павловский р-н, Нижегородская обл.). Цель нашей работы – выделение и характеристика видовой структуры зоопланктоценозов, а также определение их границ на акваториях водных объектов памятника природы «Озеро Ворсменское (Тосканка)».

Материалом для работы послужили 18 проб зоопланктона, отобранные при единовременной съёмке на оз. Ворсменском (Тосканка) и р. Кишме в июле 2014 г. Сбор и обработка материала проводились общепринятыми в гидробиологических исследованиях методами. Выделение зоопланктоценозов на акваториях водных объектов было проведено с использованием современного метода кластеризации видовой структуры – многомерного векторного анализа.

Видовой состав зоопланктона оз. Ворсменского и р. Кишмы представлен типичными и широко распространёнными в умеренных широтах видами. Видовое богатство Ворсменской озёрно-речной системы в период наших исследований было представлено 58 видами зоопланктона, среди которых 31 вид коловраток (Rotifera), 20 – ветвистоусых ракообразных (Cladocera) и 7 – веслоногих ракообразных (Copepoda).

На продольном профиле озёрно-речной системы было установлено наличие четырёх зоопланктоценозов – дискретных участков, характеризующихся различной видовой структурой зоопланктона.

Сообщество зоопланктона на акватории р. Кишмы на участке до впадения в озеро, характеризовалось доминированием науплиальных стадий веслоногих рачков (76,8% от общей численности зоопланктона) и *Keratella cochlearis* (13,6%). В переходном сообществе зоопланктона на акватории зоны контакта р. Кишмы и оз. Ворсменского доминировали *K. cochlearis* (32,2%), науплиальные стадии веслоногих рачков (24,1%) и *Asplanchna priodonta* (21,3%). Зоопланктоценоз на акватории южной и центральной частей оз. Ворсменского, характеризовался доминированием *A. priodonta* (23,4%), науплиальных стадий веслоногих рачков (18,3%) и *K. cochlearis* (18,1%). Зоопланктонное сообщество, занимавшее северную часть акватории оз. Ворсменского и участок р. Кишмы после озера, характеризовалось доминированием науплиальных стадий веслоногих рачков (33,9%), *A. priodonta* (14,0%) и *K. cochlearis* (13,3%). Формирование единого зоопланктоценоза, охватывающего часть акватории озера и р. Кишма после озера, вероятно, связано с влиянием р. Суринь, которая впадает в северо-восточную часть озера.

Минимальные значения численности и биомассы были отмечены для сообщества зоопланктона на участке р. Кишмы до впадения в озеро ($46,7 \pm 24,4$ тыс. экз./м³ и $0,06 \pm 0,03$ г/м³) и в зоопланктоценозе северной части акватории озера и участка р. Кишмы после озера ($57,26 \pm 25,86$ тыс. экз./м³ и $0,32 \pm 0,17$ г/м³), максимальные – для зоопланктонного сообщества в южной и центральной частях озера ($196,0 \pm 34,8$ тыс. экз./м³ и $1,6 \pm 0,2$ г/м³).

Таким образом, на акватории Ворсменской озёрно-речной системы на основе многомерного векторного анализа были выделены четыре дискретные, компактные области, занятые различающимися по видовой структуре сообществами зоопланктона. Формирование зоопланктоценозов, вероятно, обусловлено особым гидрологическим режимом озёрно-речной системы.

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ КОФИЛИНА

***И. Ю. Жуков^{1, 2}, Е. Л. Гурьев^{1, 2}, Т. А. Мищенко^{1, 2}, Н. С. Козина¹, Л. В. Мацкова³,
М. Р. Гайнуллин^{1, 2}***

¹Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина, 10/1; *ilya_zhukov52@mail.ru*

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Лаборатория микробиологии, опухолевой и клеточной биологии, Каролинский институт,
17177, Стокгольм, Швеция

Кофилин – внутриклеточный белок молекулярной массой 18,5 кДа, принадлежащий к семейству актин-деполимеризующих факторов. Благодаря способности связываться с глобулярным и фибриллярным актином, кофилин модулирует сборку актиновых филаментов. Перестройка актиновой сети происходит при большинстве физиологических и патологических процессов, связанных с миграцией клеток (эмбриональное развитие, хемотаксис, опухолевый рост и др.). Кофилин-актиновые взаимодействия в этих условиях носят сложный характер и контролируются за счет пост-трансляционной модификации кофилина путем фосфорилирования и убиквитилирования. Однако убиквитин-зависимый механизм регуляции активности кофилина в клетке практически не изучен.

Данная работа направлена на исследование молекулярных механизмов регуляции убиквитилирования кофилина. С этой целью проводилась оценка содержания эндогенных протеоформ кофилина: а) при манипуляциях свойствами ферментативного комплекса, включающего протеин-киназу Syk и убиквитин-лигазу Cbl, и б) при воздействии на клетки низкомолекулярными ингибиторами убиквитин-зависимых процессов.

Клетки НЕК293 культивировались на 6-луночном планшете в стандартной среде DMEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки согласно общепринятому протоколу для выбранной клеточной линии. В работе также использовались клетки НЕК293, экспрессирующие мутантные формы убиквитин-протеин лигазы Cbl и тирозинкиназы Syk. Иммунопреципитацию проводили с помощью набора Immunoprecipitation Starter Pack с использованием моноклональных антител к кофилину. Изучение эндогенных протеоформ кофилина проводилось методом иммуноблоттинга с использованием моноклональных антител к кофилину, поликлональных антител к убиквитину, моноклональных антител к убиквитину, полимеризованному по остатку Lys63 и моноклональных антител к β -актину. В работе были использованы ингибитор 26S протеасомы MG-132 и ингибитор широкого спектра деубиквитирующих ферментов PR-619.

Установлено, что кофилин подвергается мультиубиквитилированию, предположительно Lys63-ассоциированными цепями. Это указывает на регуляторный характер такой модификации. Также получены экспериментальные свидетельства влияния ферментативного комплекса, включающего протеин-киназу Syk и убиквитин-лигазу Cbl, на содержание различных протеоформ кофилина. Получены данные о роли специфических взаимодействий между Syk и Cbl в механизме регуляции уровня кофилина в клетке. Также показано различное влияние ингибиторов убиквитин-зависимых процессов на скорость деградации кофилина.

В целом, полученные результаты значительно обогащают существующий молекулярный механизм пост-трансляционной регуляции свойств кофилина. Особое практическое значение имеет расшифровка роли кофилинового пути в становлении инвазивного и метастатического фенотипа опухолевых клеток. Поэтому в дальнейшем разработанный подход к анализу внутриклеточных протеоформ кофилина может быть использован для анализа клинического материала.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант №14-04-01199-а.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИАЛУРОНИДАЗА-ЗАВИСИМОГО ПОВЕДЕНИЯ У МЫШЕЙ В ПЕРИОД РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

О. Г. Заборская¹, И. В. Мухина²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
zaborskaya_o@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603950, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Развитие нейронных сетей в процессе раннего онтогенеза является важным периодом становления поведенческой активности как животных, так и человека. Формирование нейронной сети идет вместе с формированием молекулярной сети внеклеточного матрикса мозга, в основе которой лежит гиалуроновая кислота. В мозге гиалуроновая кислота выполняет функцию поддержания физико-химических свойств внеклеточного матрикса, но появляется все больше доказательств того, что гиалуронат также изменяет функциональные свойства нейронов. Таким образом, ингибирование синтеза гиалуроновой кислоты либо ее энзиматическое расщепление, могут иметь критическое значение в период раннего постнатального развития нейронных сетей и мозга в целом. Целью данного исследования явилось изучение поведения животных в период раннего постнатального развития после энзиматического разрушения гиалуроновой кислоты в составе внеклеточного матрикса мозга. Микроинъекции деполимеризующего фермента гиалуронидазы и забуференного физиологического раствора (PBS) проводились в стереотаксической рамке на белых нелинейных мышах с генетическим стандартом SHK (возраст 17 дней). Введение препарата контролировалось системой, состоящей из микроинъектора с микроконтроллером (UltraMicroPump, UMP3, and Micro4 Controller, WPI), запрограммированных специально для прицезионного шприца объемом 10 мкл (тип D, Max. Rate = 451 nl/sec). Скорость инъектирования фермента (1000 нл/мин) была запрограммирована с учетом снижения активности фермента при комнатной температуре. Стереотаксические координаты введения (Bregma -2 mm: 1,76 mm: 1,5 mm) были подобраны заранее, в ходе адаптации методики для животных раннего неонатального периода. Гиалуронидазу вводили в третий желудочек мозга стереотаксически билатерально на 17-й день постнатального развития. Через 3 суток проводили поведенческое фенотипирование оперированных животных: на базовую и исследовательскую активность (тест «Открытое поле»), рабочую память (Условный Рефлекс Пассивного Избегания – УРПИ) и социальное поведение (тест Кроули).

В результате проведенного фенотипирования при сравнении животных, перенесших билатеральную микроинъекцию гиалуронидазы с контрольной группой (инъекция забуференного физиологического раствора) и интактной группой животных того же возраста, были сделаны следующие выводы. 1) Тест открытого поля через 3 суток после введения гиалуронидазы выявил черты гиалуронидаза-зависимого поведения у 20-дневных животных в виде повышенной тревожности в ответ на окружающую новизну и сниженную вертикальную активность, свидетельствующую о нарушении ориентировочно-исследовательского рефлекса. По другим видам базовой рефлекторной активности достоверных различий между контрольной и экспериментальной группой не выявлено. 2) Отмечено отдаленное ухудшение формирования и воспроизведения кратковременной памяти при выработке условного рефлекса пассивного избегания у животных, перенесших энзиматическое разрушение гиалуронового матрикса, что говорит о глубоких структурных нарушениях нейронных сетей мозга. 3) Выявлено гиалуронидаза-зависимое социальное поведение, проявляющееся в снижении частоты контактов испытуемого животного с первым «незнакомцем» и сниженной реакцией на социальную новизну при появлении второго объекта.

РОЛЬ ВИДА-ВСЕЛЕНЦА *KELLICOTTIA BOSTONIENSIS* В СООБЩЕСТВАХ ЗООПЛАНКТОНА ПУСТЫНСКОЙ ОЗЕРНО-РЕЧНОЙ СИСТЕМЫ (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Т. В. Золотарева, М. Ю. Ильин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tanyakuklina.NN@yandex.ru

Проблема вселения и натурализации организмов – одна из актуальных проблем современной экологии. Известно, что инвазии чужеродных видов являются второй по значению угрозой биоразнообразию после разрушения естественных местообитаний. Стремительно распространяющийся в водоемах Европы и России североамериканский вид – коловратка *Kellicottia bostoniensis* – был обнаружен в Нижегородской области (в озерах запада и юго-запада области, в среднем течении реки Керженец), а также в водных объектах Нижнего Новгорода. В связи с этим анализ количественного развития чужеродного вида в водоемах и водотоках Нижегородской области является актуальной задачей. Целью работы была оценка роли инвазивного вида *K. bostoniensis* в сообществах зоопланктона Пустынской озерно-речной системы на основе анализа их видовой структуры.

Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, отобранные в июле 2014 г. на водных объектах, расположенных на территории заказника «Пустынский»: р. Сереже; оз. Великом; Протоке, соединяющей оз. Великое и оз. Свято; оз. Свято. Сбор и обработка материала проводились общепринятыми в гидробиологических исследованиях методами.

С использованием современного метода кластеризации видовой структуры (многомерного векторного анализа) на акваториях исследованных водных объектов было установлено наличие 6 сообществ зоопланктона. Чужеродный вид *K. bostoniensis* был зарегистрирован в большинстве из них. Доля вида от общей численности зоопланктона была минимальной в переходном сообществе, локализованном на участке акватории Протоки, примыкающем к оз. Свято (1,4%, или 10,0 тыс. экз./м³), максимальной – в сообществе оз. Свято (36,9%, или 45,8 тыс. экз./м³). Установлено, что в сообществе зоопланктона оз. Свято численность вида-вселенца составляла более 50% от общей численности всех коловраток. Минимальная биомасса вида была отмечена в сообществе оз. Великого (0,1%, или 2,0 мг/м³), максимальная – в сообществе оз. Свято (1,4%, или 9,0 мг/м³) от общей биомассы зоопланктона.

Наряду с чужеродным видом в ряде сообществ зоопланктона был идентифицирован родственный ему аборигенный вид – коловратка *Kellicottia longispina*. Его доля не превышала 0,6% (2,8 тыс. экз./м³) от общей численности и 0,02% (0,5 мг/м³) от общей биомассы зоопланктона.

Проведенные исследования показали, что вид-вселенец *K. bostoniensis* играет доминирующую роль в видовой структуре сообщества зоопланктона оз. Свято. В сообществах других водных объектов количественное развитие чужеродного вида относительно невелико. Аборигенный вид *K. longispina*, занимающий в сообществах сходную экологическую нишу, играет незначительную роль в их видовой структуре. Таким образом, вклад чужеродного вида в формирование видовой структуры сообществ является более существенным, чем аборигенного. Это обуславливает необходимость проведения мониторинговых исследований водных объектов Нижегородской области, в которых были отмечены эти виды зоопланктона.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОЯВЛЕНИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ФИТОМАССЫ ЯСЕНЦА ГОЛОСТОЛБИКОВОГО С ПОМОЩЬЮ ALLIUM-ТЕСТА *М. В. Иванова*

Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева,
443011, Самара, ул. Академика Павлова, 1; *maryaivon@gmail.com*

Фитомасса высших растений содержит огромное разнообразие вторичных соединений, для которых отмечается высокая биологическая активность. Прежний взгляд на вторичные соединения как конечные продукты обменных процессов сменился представлениями о многостороннем участии вторичных метаболитов растений во взаимодействии с другими живыми организмами. В качестве хемоэффекторов (хемомодуляторов) эти соединения защищают растения от фитопатогенов, фитофагов, участвуют в формировании аллелопатической среды, влияют на развитие сапрофитной микрофлоры и т.д. Не только эффекты на уровне взаимодействующих организмов, но и тонкие механизмы влияния хемоэффекторов на клетки, в том числе тест-объектов, заслуживают особого внимания.

Целью нашей работы было выявление с помощью Allium-теста возможных генотоксических эффектов сока ясенца голостолбикового, вызывающего у человека при контакте с кожей дерматотоксикозы. Нам известно аналогичное исследование, выполненное для борщевика Сосновского в Ярославском государственном педагогическом университете в 2011 г. Д. С. Песней, Д. А. Серовым, С. А. Вакориным и И. М. Прохоровой.

Образцы собранных в июле 2015 г. в Ботаническом саду Самарского университета листьев замораживали и хранили при -16°C , после разморозки использовали для проведения тестирования, отжимая сок и сразу же вводя в тест-среду. Тестирование выполняли на чашках Петри, семена лука репчатого сорта Штутгартен Ризен размещали на бумажных фильтрах, смоченных дистиллированной водой (контроль), либо цельным или разбавленным (1, 10, 50%) соком ясенца (опыт). Чашки Петри помещали в термостат, тестирование продолжали 5 суток. Дальнейшие процедуры проводили, придерживаясь стандартного протокола Allium-теста. Особенности цитотоксического действия оценивали по изменениям величины митотического индекса, относительной длины каждой фазы митоза. В анализе исследовали не менее 1000 клеток с каждой повторности контроля и опыта. Для оценки генотоксического действия использовали ана-телофазный анализ хромосом в клетках меристемы корешков лука. Для опыта, а также контроля анализировали не менее 280 ана-телофаз с каждой повторности. Таким образом, было проанализировано около 8000 клеток.

Всхожесть семян продемонстрировала снижение данного показателя в опыте: при 1%-й концентрации сока показатель понизился на 3,3%, показатель 10%-й концентрации ниже контрольного на 28,8%. Опыты с использованием 50% концентрации и цельного сока показали отрицательный результат (гибель проростков). Оценка цитотоксичности сока в 10-кратном разбавлении показала незначительное повышение митотического индекса, при 100-кратном разбавлении сока опыт более чем в 1,5 раза превышал значения контроля, что говорит о чувствительности некоторых фаз митоза к воздействию биологически-активных веществ в соке ясенца, а именно: при использовании 10%-й концентрации наблюдалось увеличение количества метафаз (в большей степени), телофаз и анафаз (в меньшей степени); 1%-я концентрация проявила своё действие почти в 2-х кратном увеличении количества профаз, а так же небольшом увеличении метафаз и анафаз. Ана-телофазный анализ показал низкую чувствительность, в связи с высокой степенью aberrаций в контроле, однако стоит отметить, что действие 10%-й концентрации вызвало рост уровня хромосомных aberrаций.

В целом, проявившийся эффект воздействия сока ясенца на корневую меристему лука можно интерпретировать следующим образом: в небольших концентрациях комплекс активных веществ сока ясенца обладает стимулирующим пролиферативным действием, при увеличении концентрации – тормозящим пролиферацию, мутагенным действием.

ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ГРУППИРОВКИ *FORMICA AQUILONIA* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) НА ТЕРРИТОРИИ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Т. И. Иванова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
79524612788@yandex.ru

Ранее на основании анализа признаков окраски и хетотаксии головы и грудных сегментов рабочих особей установлено существование северной и южной групп популяций северного лесного муравья (*Formica aquilonia*) на территории Нижегородской области. Географическое разделение этих популяционных групп связано с подзональной границей между таежными и хвойно-широколиственными лесами (Корочкина и др., 2014). Целью настоящего сообщения является сравнение популяционной изменчивости *F. aquilonia* в смешанных лесах Ковернинского района с популяциями из северной и южной частей области на основе признаков хетотаксии затылочного края головы, хетотаксии пронотума, мезонотума и проподеума. В качестве рабочей гипотезы рассматривалась принадлежность изученной популяции в Ковернинском районе к северной группе.

Для анализа использовались гнездовые выборки рабочих *F. aquilonia* по 50 рабочих с вершин куполов муравейников из нескольких локалитетов на территории Нижегородской области (в скобках приняты обозначения популяций): Старая Пустынь (Арзамасский район) – 4 выборки, 2007 г. (СП); Спасское (Семеновский район) – 5 выборок, 2003 г. (С); Анисимово (Ковернинский район) – 3 выборки, 2015 г. (А). Всего изучено 600 особей. Подсчет отстоящих и полустоящих волосков на затылочном крае головы фронтально и на тергитах груди при виде сбоку проводили с помощью стереомикроскопа Carl Zeiss Stemi 2000-C при увеличении $\times 32$. Число волосков у каждой особи в изученных выборках выражали в баллах с шагом 3 для затылочного края и 5 – для пронотума, мезонотума и проподеума (отсутствие волосков выражали баллом 0). Сходство популяций оценивали путем сравнения преобладающих частот баллов хетотаксии, а также с помощью показателя популяционного сходства r (Животовский, 1991).

Результаты сравнения частот преобладающих баллов хетотаксии затылочного края головы и грудных сегментов *F. aquilonia* отражают значительное сходство выборок из популяций А и С, а также их существенное отличие от популяции СП. В выборках особи с первым баллом хетотаксии затылочного края составляют более 50%, с тем же баллом хетотаксии грудных сегментов – 40–50% (популяция А) и 50–60% (популяция С). Слабое отстоящее опушение затылочного края и мезосомы в целом характерно для популяций *F. aquilonia* в северной таежной части Нижегородской области. Выборки из популяции СП, напротив, характеризуются преобладанием второго балла хетотаксии (30–40% особей) как затылочного края головы, так и тергитов груди. Сравнение выборок из популяций А и С на основе показателя r подтверждает высокую степень их сходства ($r > 0,85$).

Таким образом, полученные данные позволяют говорить о принадлежности изученных выборок *F. aquilonia* в Ковернинском районе к северной группе популяций.

**ДЕЙСТВИЕ ПРОДУКТОВ ПЧЕЛОВОДСТВА НА ОТНОСИТЕЛЬНОЕ
СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ КРЫС ПРИ
МОДЕЛИРОВАНИИ У НИХ САХАРНОГО ДИАБЕТА**

А. А. Иванушкина, О. Ю. Барина, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
aisknext@mail.ru

Сахарный диабет (СД) – одно из наиболее частых хронических заболеваний, остается важнейшей проблемой здравоохранения практически всех стран. Для лечения СД обычно применяют препараты, вызывающие снижение глюкозы в крови, но каждый из них имеет свои побочные действия. Поэтому на сегодняшний день актуальным является поиск эффективных немедикаментозных препаратов, улучшающих общую неспецифическую резистентность организма. Одним из таких средств может быть апитерапия – лечение продуктами пчеловодства. Целью работы ставилось исследование относительного количества лейкоцитов и концентрацию глюкозы при апитерапии животных с СД первого и второго типов.

Экспериментальное моделирование СД первого и второго типов было проведено на 40 беспородных белых крысах. Крысы были разделены на 2 серии. Первая серия – животные, у которых вызывали СД первого типа. СД первого типа вызывали однократным подкожным введением раствора аллоксана моногидрата 170мг/кг. Вторая серия – животные, у которых вызывали СД второго типа. СД второго типа у животных вызывали многократным введением 40%-го раствора глюкозы в дозе 0,5 мл на 200 г. массы тела в течение 7 суток. Далее в течение 10 суток крысам с СД первого и второго типов проводили терапию продуктами пчеловодства (маточное молочко, прополис, пчелиный яд) в зависимости от группы. Маточное молочко (100мг/кг) и прополис (100мг/кг) вводили per os, пчелиный яд внутривентриально. Контролем служили животные, не подвергавшиеся воздействию, и животные, у которых моделировали сахарный диабет без последующего проведения курса апитерапии. Во всех сериях проводили измерение концентрации глюкозы и анализ лейкоцитарной формулы. Результаты обрабатывали при помощи программы BIOSTAT. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

При моделировании СД первого и второго типов у крыс развивалась гипергликемия. Продукты пчеловодств уменьшали содержание глюкозы в крови, наиболее значимое снижение глюкозы регистрировалось при использовании пчелиного яда, тогда как прополис вызывал наименьшее воздействие. Оценивая уровень резистентности по выраженности признаков напряженности в лейкоцитарной формуле можно говорить о низком уровне реактивности при моделировании СД первого и второго типов с развитием стресс-реакции в организме. Анализ данных о содержании в периферической крови лимфоцитов свидетельствует, что использование пчелопродуктов вызывало увеличение количества лимфоцитов в периферической крови и уменьшение стрессового состояния у животных. При этом наиболее эффективным действием обладали пчелиный яд и маточное молочко. Вероятно, корректирующее действие пчелопродуктов обусловлено их влиянием на обменные процессы в организме.

СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ SPF ВИВАРИЯ ННГУ

Е. Д. Ивлев¹, С. Д. Умеренков¹, С. А. Мельник¹, А. А. Миронов^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603950, просп. Гагарина, 23;

ivlev@neuro.nnov.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Виварий – это комплекс из системы специальных помещений и оборудования для содержания и разведения лабораторных животных. SPF статус вивария (specific pathogen free) означает отсутствие видоспецифичных патогенных микроорганизмов, вызывающих различные инфекционные заболевания у животных. SPF статус необходим для содержания трансгенных животных, чаще всего мышей, т.к. у них нет патогенной микрофлоры, иммунитет минимальный, и поэтому необходимо содержать их в специальных условиях. SPF виварий построен с соблюдением жестких требований по стерильности, соответствующих международным стандартам GLP и седьмому классу чистоты по ISO. Многоступенчатая система защиты обеспечивает предотвращение занесения любых инфекций. Первые животные поступили в SPF виварий 23 июня 2015 г. Это были 16 самок и 34 самца линии C57BL6, т.е. 50 животных. Уже в следующем месяце в рамках проекта «Идентификация новых мутаций, контролирующей пороки развития коры головного мозга посредством ENU-индуцированного мутагенеза у мышей» в виварий приехали животные линий SATB1, SATB2, SIP1 и C3H. Всего в конце июля в виварии содержалось 187 животных. Также в сентябре наш SPF виварий пополнился новыми линиями, а именно TNFKI и Kat2A для проекта «Новые лекарства и принципы анти-ФНО терапии при аутоиммунных заболеваниях». В следующий период, с октября до конца декабря 2015 г. количество животных более чем удвоилось с 520 до 1058.

В 2016 г. рост численности животных продолжился и в конце марта достиг количества 1991 особь. В феврале к нам поступили первые трансгенные животные линии B6SJL-Tg(SOD1-G93A)1Gur/J. В конвенциональной части вивария сегодня содержатся 206 мышей линии C57BL6, 78 – DBA2, 97 – LacZ, и более 50 ожидают генотипирования. Также конвенциональный виварий 21 декабря пополнился крысами линии Wistar в количестве 125 самок и 25 самцов, и линии Sprague Dawley – 20 самок и 10 самцов. Сегодня с учетом родившегося потомства в виварии содержится более 200 крыс. Для полноценного разведения SPF животных нарабатывается методика эмбриотрансфера. Благодаря наличию поведенческих установок Coulborn, Laboras и Panlab на базе вивария проводится полный цикл всех стандартных поведенческих тестов и исследований, изучение процессов памяти и обучения, выработка и воспроизведение условных рефлексов, проведение нейробиологических, фармакологических и генетических научных исследований. Операционная комната позволяет проводить все необходимые хирургические манипуляции и создавать хирургические модели различных патологических состояний животных. На базе вивария создаётся образовательно-практический центр, проводящий обучение работе в «забарьерном пространстве», операционным техникам, манипуляциям с spf животными и др.

Нами уже ведутся совместные исследовательские работы с международными и российскими научными центрами. Есть договоренности с Нижегородской медицинской академией, Нижегородской сельхозакадемией, Мининским университетом. Реализуется проект с Институтом иммунологии клиники в Берлине по изучению мутагенеза, Немецким центром нейродегенеративных расстройств. Возможности вивария позволяют проводить исследования по проблемам шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, нарушений памяти и других нейродегенеративных расстройств на самых различных уровнях – молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом, системном, организменном – вплоть до изучения особенностей поведения.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБОНЯТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ КРЫС, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Э. В. Каменская, И. В. Мухина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23; *kam-elin@mail.ru*

Получение и культивирование стволовых и прогениторных клеток обонятельной выстилки является актуальным направлением для разработки протоколов лечения травматических и дегенеративных повреждений нервной системы. Ранее было отмечено, что большинство нейральных прогениторов чаще проходят стадии дифференциации в сфероидах, чем в монослойной культуре. В сфероидах выявляют процессы нейрогенеза, аналогичные найденным в особых участках мозга взрослых животных (нишах). Этот факт поддерживает идею, что внутриклеточная ниша в сфероидах более благоприятна для жизни и дифференциации нейронных предшественников, в то время как межклеточное взаимодействие в монослойной культуре может способствовать выживанию и дифференцировке только глиальных клеток.

Целью работы явилось изучение путей дифференциации нейральных стволовых клеток обонятельного эпителия в монослое и нейросферах при их помещении в условия искусственной ниши *in vitro*. В работе были использованы методы: выделения и культивирования нейральных стволовых клеток обонятельного эпителия в микрофлюидных биочипах; иммуноцитохимического фенотипирования клеток. Полученные данные были обработаны в программах ImageJ и Astroman.

В ходе исследования был получен длительно культивируемый монослой клеток и культура нейросфер, выделенных из обонятельного эпителия половозрелых крыс Wistar. Произведено иммуноцитохимическое фенотипирование (GFAP, MAP2, Sox2, Nestin) выделенной из обонятельного эпителия монослойной культуры после 14 дней ее культивирования в среде, содержащей сыворотку. Соотношение количества GFAP – позитивно-окрашенных клеток к клеткам, окрашенным одновременно SOX2 и GFAP (Quiescent Progenitors [молчащие прогениторы]), на площади 10000 мкм² составило 1,5. Это означает, что в монослойной культуре, культивируемой в среде DMEM/F12 с 10%-содержанием FBS, на 14 день развития наблюдается спонтанная дифференцировка клеток по нейральному пути развития, однако большая часть клеток сохраняет свою прогениторность. Соотношение Nestin – позитивно окрашенных к клеткам, окрашенным одновременно SOX2 и Nestin, на единицу площади 10000 мкм² составляет 0,046. Следует отметить, что такое соотношение клеток характерно для следующей стадии дифференцировки нейральных прогениторов – «Amplifying Progenitors», стадии развития нейральных стволовых клеток, при котором клетки могут не проявлять свое сродство к Nestin. В наших экспериментах в некоторых длительно живущих монослойных культурах обонятельного эпителия крысы при культивировании в среде, не содержащей нейроростовых факторов, наблюдалась спонтанная дифференциация прогениторных клеток, что вероятно определялось наличием факторов роста в сыворотке (ПанЭко), используемой для культивирования и создания ниши.

Таким образом, изучение возможности дифференцировки аутологичных стволовых элементов обонятельного эпителия на модели искусственной ниши *in vitro* открывает новые перспективы в изучении механизмов дифференцировки прогениторных клеток в мозге *in vivo*, при их помещении при реконструктивных операциях в соответствующие области мозга.

ДИНАМИКА РОСТА И РАЗВИТИЯ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ВОЗОБНОВЛЕНИИ ЛЕСА НА ВЫРУБКАХ (ТВЕРСКАЯ ОБЛАСТЬ)

А. И. Кобысов

Тверской государственной университет, 170100, Тверь, ул. Желябова, 33;
kobysov92@mail.ru

Интенсивные и незаконные рубки лесных насаждений привели к обширному обезлесению территорий. Роль леса в биосфере и для людей огромна. Древесные насаждения защищают землю от эрозии, а среду обитания – от болезнетворных бактерий; регулируют гидрологический режим и газовый состав атмосферы, будучи самым эффективным и мощным поглотителем углекислого газа и производителем кислорода, влияя, таким образом, на климат биосферы и защищая планету от перегрева. Поэтому изучение возобновления древесных растений важно и актуально.

Цель исследования – изучить особенности динамики роста сосны обыкновенной при искусственном возобновлении леса в разных условиях произрастания на территории Максатихинского района Тверской области. Были поставлены следующие задачи: 1) изучить особенности влияния предшествующих древесных пород после вырубki на рост и развитие лесных культур; 2) установить зависимость динамики роста сосны от густоты посадки; 3) выявить зависимость роста сосны от возраста лесных культур. Работа проводилась на пробных площадях.

На всех пробных площадях, заложенных в Малышевском участковом лесничестве Удомельского лесничества (8 квартал, 10 выдел) изучалось искусственное возобновление сосны сеянцами (применялась методика посадки рядами в дно борозды). Сеянцы были 3-летнего возраста. Средняя высота сеянцев не превышала 7 см ($n=90$). Высадка сеянцев была произведена на вырубках после сосняков-брусничников. Густота посадки сеянцев на гектар составила около 6000 штук. На протяжении последующих трех лет естественного отпада практически не происходило. Экологические условия практически не оказывали влияния на рост и развитие лесных культур. В 7-летнем возрасте кроны сосны начинают смыкаться. В этом возрасте повышается конкуренция отдельных деревьев за свет, влагу, минеральное питание и пространство. В связи с дальнейшим ростом и развитием сосны произойдет естественный отпад древостоя. В дальнейшем будет продолжено изучение искусственного возобновления сосны.

МОДУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ТЕСКАЛЦИНА В МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

К. Г. Колобынина, Л. Г. Тазетдинова, М. О. Гомзикова, В. В. Соловьева, А. А. Ризванов
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
korenaticat@mail.ru

Белок тескалцин, относящийся к семейству EF-hand Ca^{2+} -связывающих белков, показал свое участие во многих основополагающих процессах: в процессе дифференцировки гемопоэтических клеток, а кроме того тескалцин является потенциальной онкомишенью, нейрональным маркером и ингибитором гипертрофии сердца. Однако не существует данных о влиянии изменений экспрессии тескалцина на свойства мезенхимных стволовых клеток человека. В то же время особое место в регенеративной медицине занимают исследование и применение стволовых клеток, при этом практическое значение приобретают стволовые клетки, выделенные из жировой ткани, поскольку они отличаются сравнительной доступностью и высоким пролиферативным потенциалом. Актуальным является исследовать влияние модуляции экспрессии тескалцина на стволовые клетки человека, что может иметь перспективы для дальнейшего их применения в медицинской практике. Цель исследования – создать клеточные линии мезенхимных стволовых клеток из жировой ткани человека (МСК-ЖТ) со сверхэкспрессией или нокдауном гена тескалцина.

Стволовые клетки из жировой ткани человека были выделены с помощью ферментативной обработки 0,2% раствором коллагеназы краба (159 ПЕ/мг). Иммунофенотипирование МСК-ЖТ проводили с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания специфичными антителами к различным CD-маркерам. МСК-ЖТ со сверхэкспрессией или нокдауном гена тескалцина были получены путем их генетической модификации с использованием рекомбинантных лентивирусов, которые были получены по стандартной методике путем ко-трансфекции векторной, оболочечной и упаковочной плазмидами клеток НЕК293-FT. Сортировка клеточных популяций осуществлялась с помощью клеточного сортиera BD FACSAria III (BD Biosciences) на основе интенсивности флуоресценции репортерного гена зеленого флуоресцентного белка *gfp*. Плазмиды предоставлены профессором молекулярной и клеточной фармакологии Медицинской школы Университета Майами (США) В. З. Слепаком. Жизнеспособность МСК-ЖТ оценивали с использованием MTS-теста (Promega).

В результате работы из жировой ткани человека были выделены МСК. Выделенные клетки имели фибробласто-подобную морфологию и экспрессировали поверхностные антигены, характерные для МСК человека: CD29, CD73, CD90, CD105 и CD166. С помощью генетической модификации рекомбинантными лентивирусными частицами были получены МСК-ЖТ с эктопической экспрессией или нокдауном гена тескалцина. В качестве репортерного гена лентивирусы несли в себе ген зеленого флуоресцентного белка GFP, степень трансфекции коррелировала с интенсивностью флуоресценции. Через 48 часов после трансфекции подавляющее число клеток экспрессировали белок GFP, что свидетельствует о эффективности трансфекции. Было показано, что модуляция экспрессии тескалцина почти не оказывает влияния на их жизнеспособность по сравнению с контролем. В дальнейшем планируется исследовать свойства полученных клеточных линий МСК-ЖТ, интенсивность их дифференцировки в различных направлениях, а также провести протеомный анализ продуктов клеток с различными уровнями экспрессии тескалцина человека.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-44-02509.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ФИТОПЛАНКТОНА ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕК СУНДОВИК И КУДЬМА (БАССЕЙН ЧЕБОКСАРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА)

К. Е. Коломина, Е. Л. Воденеева, Е. М. Шарагина, О. О. Бондарев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kolomina.ksu@mail.ru

В странах ЕС для оценки состояния водных объектов согласно Водной Рамочной Директиве используется экосистемный подход, одним из критериев которого выступают состав и структурные показатели фитопланктона (функциональные группы – FGs, индекс сообщества Q, показатель экологического состояния EQR). Несмотря на широкое использование этого подхода за рубежом попытки его применения в нашей стране единичны. Цель работы – апробация метода функциональной классификации фитопланктона для оценки качества вод наиболее загрязненных правобережных волжских притоков (реки Кудьма и Сундовик). Альгологические исследования проводились в среднем и устьевом участках р. Кудьмы (2010 г.), в низовье и устье р. Сундовик (2014 г.).

Таксономическое разнообразие водорослей в исследуемых водотоках было представлено 171 (р. Кудьма) и 286 (р. Сундовик) видовыми и внутривидовыми таксонами, с преобладанием диатомовых (36–51% общего перечня) и зеленых водорослей (31–38%). Средневегетационная биомасса фитопланктона в р. Кудьме возрастала вниз по течению от олиготрофного уровня ($0,86 \pm 0,39$ г/м³) до мезотрофного ($2,11 \pm 0,76$ г/м³), в низовьях р. Сундовик она не отличалась от биомассы устьевого участка (соответственно $2,96 \pm 0,54$ и $2,95 \pm 1,05$ г/м³), соответствуя мезотрофии. Всего в р. Кудьме было выделено 24, в р. Сундовик – 21 функциональных групп фитопланктона (кодонов), из них 20 были общими для обеих рек. В среднем течении р. Кудьмы постоянным компонентом реки выступала группа D (диатомеи *Stephanodiscus hantzschii*, *Ulnaria* spp., *Nitzshia* spp.– индикаторы эвтрофирования вод), в весенний и летний сезоны – группа W₁ (различные виды эвгленид и ценобиальные вольвоксовые – *Pandorina morum*); в осенний – группы C (летне-осенний доминант Чебоксарского водохранилища *Cyclotella meneghiniana*) и S₁ (цианопрокариоты планктотрихетового комплекса – *Planktothrix agardhii*) Присутствие безгетероцистных форм цианобактерий, не способных фиксировать атмосферный азот, хорошо коррелировало с его избыточным содержанием в водах реки. В устье реки состав доминирующих функциональных групп менялся незначительно (преобладали группы D и C), летом отмечалась группа H₁, включающая представителей цианопрокариот (*Anabaena planctonica*). В р. Сундовик преобладала группа T_B, являющаяся показателем истинно лотических условий (бентосные диатомеи *Gyrosigma* spp., *Amphora* spp., *Pinnularia* spp. *Symbella* spp. и др.), а также группа D. В устьевом участке реки, в отличие от р. Кудьмы, более заметно влияние зарегулирования стока. Весной отмечался лимнофильный потамопланктон (динофлагеллята из группы L₀ и криптомонады из X₃); летом и осенью – эвтрофный диатомовый планктон (группы B и D) при сопутствии криптомонад из группы Y.

Качество воды в водотоках по гидрохимическим показателям (индекс УИКЗВ) соответствовало классу «загрязненная» (р. Сундовик) и «грязная» (р. Кудьма). По средневегетационным значениям индекса сапробности качество воды рек оценивалось как «умеренно загрязненное», по индексу сообществ Q – «хорошим» либо «высоким», по EQR – в разных участках течения от «умеренного» до «высокого». В целом использование системы сапробности, традиционно применяемой в нашей стране, и индексов Q и EQR, рекомендованных к применению в странах ЕС, слабо соответствовало результатам гидрохимического анализа. Однако индексы Q и EQR изменялись в более широком диапазоне, чем индекс сапробности, четче отображая ход сезонной сукцессии альгоценозов и связанных с ней процессов естественного самоочищения водотоков.

ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК НИЖНЕГО НОВГОРОДА

А. В. Копылов, Е. Б. Романова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alexander_kopylov@list.ru, romanova@bio.unn.ru

Антропогенное загрязнение в городах приводит к росту мутационного груза, изменяя генетические параметры популяций живых организмов. В настоящей работе дана дифференцированная оценка эритроцитов с микроядрами в крови зеленых лягушек водоемов Нижнего Новгорода и проведен анализ зависимости цитогенетических показателей популяций зеленых лягушек от содержания в водоемах ряда химических элементов.

Объекты исследования: озерные лягушки (*Pelophylax ridibundus*), отловленные в водоемах Сормовского района Нижнего Новгорода (оз. Сормовской ТЭЦ; оз. Лунское; оз. Силикатное); прудовые лягушки (*Pelophylax lessonae*), отловленные в оз. Вторчермет (Канавинский район). Объем каждой выборки составил 21 особь. Всего отловлено 63 озерных и 21 прудовая лягушка. Приготовленные препараты просматривали под микроскопом, анализируя 1000 клеток на препарат. Выделяли следующие виды микроядер: стандартные, прикрепленные (на поверхности ядра, соединенные с ним хроматиновой нитью), палочковидный и клубочковидный неоформленный ядерный материал, крупные ядерные образования. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с расчетом непараметрических критериев Данна, Спирмена в программном пакете Statistica 10. За уровень статистической значимости принимали $p=0,05$.

Характер выявленных цитогенетических нарушений в популяциях значительно различался. Частота встречаемости стандартных микроядер в эритроцитах особей популяции оз. Силикатное статистически значимо превышала аналогичные показатели других популяций. Корреляционный анализ выявил зависимость между частотой встречаемости стандартных микроядер и содержанием в водоемах сульфатов ($r=0,992$, $p=0,008$). Можно полагать, что увеличение частоты встречаемости стандартных микроядер в эритроцитах особей этой популяции связано с негативным опосредованным воздействием сульфатов на систему репарации ДНК.

Показатели частоты встречаемости палочковидного неоформленного ядерного материала и крупных ядерных образований в эритроцитах особей популяции оз. Сормовской ТЭЦ статистически значимо превышали аналогичные показатели популяций оз. Лунское и оз. Силикатное; статистически значимых различий с популяцией оз. Вторчермет обнаружено не было. По клубочковидным микроядрам статистически значимые различия выявлены между популяцией оз. Сормовской ТЭЦ и остальными популяциями. Корреляционный анализ выявил зависимость между частотой встречаемости клубочковидных микроядер и содержанием в водоемах меди ($r=0,99$, $p=0,01$). Увеличение частоты встречаемости клубочковидных микроядер в эритроцитах особей данной популяции, по-видимому, связано с ингибирующим влиянием ионов меди на процесс полимеризации тубулина, следствием чего является нарушение расхождения хромосом и формирование микроядер.

Результаты дифференцированного анализа эритроцитов с микроядрами свидетельствуют о том, что популяции оз. Силикатное и оз. Сормовской ТЭЦ характеризовались большей степенью цитогенетических нарушений на фоне популяции оз. Лунское. Популяция оз. Вторчермет по данному показателю занимала промежуточное положение.

Полученные результаты обуславливают необходимость комплексных исследований с использованием цитогенетических показателей живых организмов для сбора информации об эколого-генетическом состоянии популяций, территориально сосуществующих с людьми.

ВИДОВАЯ СТРУКТУРА ЗООПЛАНКТОНОЦЕНОЗОВ НЕКОТОРЫХ ВОДОЕМОВ БОРСКОЙ ПОЙМЫ

А. А. Коробов, И. С. Макеев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sea_tea@mail.ru

Водоемы старичного происхождения Борской поймы активно используются жителями Нижнего Новгорода и Бора как объекты рекреации и любительского рыболовства. Они являются условно фоновыми по загрязнению и гидрологически связаны с речным участком Чебоксарского водохранилища. Загрязнение этих водоемов связано с поверхностным стоком с автодорог и железнодорожной магистрали, а также селитебных и сельскохозяйственных угодий. Озеро Толоконцевское подвержено более интенсивной антропогенной нагрузке. Целью работы явилась оценка экологического состояния пойменных озёр Кисленко и Толоконцевское Борского района Нижегородской области. Материал собран в июле 2015 г. на 5 и 7 станциях соответственно.

Зоопланктоноценозы этих пойменных озёр почти не были изучены. Экосистемы водоемов и их водосборов находятся в фоновом или слабо нарушенном состоянии и представляют собой удобные модельные объекты для изучения транзитно- аккумулятивных процессов гидродинамики. Они имеют большую протяжённость и пространственное разнообразие разных типов биотопов, что важно для инвентаризации планктонофауны и наблюдений за распространением видов-вселенцев.

Описан видовой состав зоопланктона данных водоемов, изучена видовая структура зоопланктоноценозов с помощью ценотического анализа, индексов видового богатства, видового разнообразия и выравненности, дана оценка качества воды с помощью сапробиологического метода Пантле и Бука, а также комплексная оценка состояния экологического состояния водоемов.

Зоопланктон имеет средний уровень видового богатства (28 и 29 видов). Большинство обнаруженных видов являются эвритопными, тепловодными, представителями озёрной и озёрно- прудовой планктонофауны, однако значительную часть составляют фитофильные виды. Численность невысокая (оз. Кисленко – 7,5 тыс. экз./м³; оз. Толоконцевское – 12,7 тыс. экз./м³), преобладают веслоногие ракообразные (62,7 и 75,8% соответственно). Доминируют науплиальные и копеподитые стадии *Mesocyclops leukarti*, субдоминантом является *Thermocyclops oithonoides*. Высокую численность также имеют *Asplanchna priodonta*, *Daphnia cucullata*, *Diaphanosoma brachyurum*, *Bosmina longirostris*.

Видовое разнообразие зоопланктона озёр по индексу Шеннона на основе численности видов имеет высокий уровень, характерный для мезотрофных водоемов (3,23 и 2,92 бит). Большая часть видов являются представителями β-мезосапробной зоны, олигосапробные виды составляют 10–15% планктонофауны. Индекс Пантле-Бука по численности видов-индикаторов характеризует озера переходным классом качества от чистых к умеренно-загрязнённым (1,50–1,52). Индекс, рассчитанный по биомассе видов, дает более высокие значения, что объясняется большим удельным весом крупных видов – индикаторов эвтрофии и игнорированием мелких олиготрофных видов, поэтому лучше руководствоваться оценками сапробности по численности видов.

В целом экологическое состояние исследованных озёр по комплексу показателей зоопланктона оценивается как относительно удовлетворительное; заметные признаки антропогенного эвтрофирования отмечаются для озера Толоконцевского, тогда как озеро Кисленко оценивается как сравнительно благополучное.

ВЛИЯНИЕ СВЕТОВОГО РЕЖИМА НА РОСТ, РАЗМНОЖЕНИЕ И АССИМИЛЯЦИОННУЮ СПОСОБНОСТЬ ВОДЯНОГО ГИАЦИНТА

М. И. Коротаева¹, И. С. Макеев¹, С. Ю. Горбунова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

²Институт морских биологических исследований РАН им. А.О. Ковалевского, 299011, Севастополь, просп. Нахимова, д. 2; bellisqui42@mail.ru

Водяной гиацинт (эйхорния) – плейстонный гидрофит тропического происхождения из семейства понтедериевых. Эйхорния широко используется в южных регионах для дополнительной биологической очистки коммунально-бытовых и производственных сточных вод. Известно, что водяной гиацинт светолюбив, однако влияние режима освещенности на его скорость роста, размножения и ассимиляцию биогенных элементов изучены недостаточно. Актуальность исследований связана с необходимостью оптимизации светового режима для фиторемедиации сточных вод в искусственно освещаемых закрытых бассейнах и открытых биологических прудах. Целью работы является оценка влияния разных режимов освещенности на рост, развитие, размножение и ассимиляцию минеральных форм азота и фосфора водяного гиацинта. К числу основных задач работы относится изучение влияния освещенности на рост, развитие, размножение и морфометрические признаки и оценка ассимиляционной способности эйхорнии по отношению к факторам эвтрофикации водоемов (азоту и фосфору).

Эксперименты проведены на накопительных культурах в отделе биотехнологий и фиторесурсов Института морских биологических исследований РАН (Севастополь). Растения выращивались в лаборатории и под открытым небом в бассейнах объемом воды 100 л при стартовом внесении биогенных веществ. В качестве источника света в лабораторных условиях использовали люминесцентные лампы DRLS с величиной освещенностью 3 кЛк. Проведено 5 серий эксперимента для оценки влияния светового режима продолжительностью 15–25 суток. Измеряли фитомассу, морфометрические признаки листьев, количество дочерних раметов, концентрацию азота и фосфора.

В условиях рассеянного солнечного освещения наблюдается наименьшая скорость роста, размножения и чистой первичной продукции, что подтверждает светолюбивость водяного гиацинта. Суммарная площадь листовой поверхности максимальна при прямом солнечном освещении и минимальна при затенении. В условиях искусственного освещения отмечается удлинение листовых черешков, а в условиях естественного освещения – развитие поплавок черешка, связанное с влиянием ветра. Обнаружена высокая отрицательная корреляция фитомассы с концентрацией в воде минерального фосфора и умеренная корреляция с содержанием нитратного азота. Таким образом, фосфор является ключевым лимитирующим ресурсом для вегетативного роста водяного гиацинта. Функциональная зависимость чистой первичной продукции от поглощения минерального фосфора культурой водяного гиацинта аппроксимируется линейной регрессией с наиболее высоким коэффициентом детерминации ($R > 0,7$) в условиях прямого солнечного освещения. С помощью полученных регрессионных моделей можно прогнозировать чистую первичную продукцию на разных фазах роста культуры в зависимости от концентрации минерального фосфора в условиях накопительного культивирования *in situ* и *in vitro*.

БИОЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАЧЕСТВА СЕМЯН НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ РАСТЕНИЙ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

М. Г. Котельникова

Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева,
443011, Самара, ул. Академика Павлова, 1; rizik230991@yandex.ru

В настоящее время в условиях ускоренной деградации природных экосистем в результате антропогенного воздействия все большее значение приобретает проблема сохранения биологического разнообразия. Наиболее актуальными становятся исследования, связанные с изучением биоэкологических особенностей видов природной флоры, в том числе редких видов высших растений. Как известно, качество семян имеет решающее значение для успеха сохранения и воспроизводства популяций данных растений в природе и в культуре. Особого внимания заслуживают такие показатели семенного размножения, как качество семян, семенная продуктивность, прохождение стадий развития.

В лесостепных и степных экосистемах Среднего Поволжья интерес представляет Красносамарский лесной массив (Самарская обл.), на территории которого произрастают 21 редкий и 14 раритетных для Волго-Уральского региона видов растений. С мая 1974 г. в весенне-летний период массив является объектом мониторинга и ежегодных экспедиций специалистов биологического факультета Самарского государственного университета, целью которых является изучение естественных и искусственных лесных биогеоценозов. Особый акцент делается на изучение сообществ редких и исчезающих видов растений.

С 2001 г. на кафедре экологии, ботаники и охраны природы СГУ были проведены исследования качества семян таких редких растений Самарской области, как рябчик русский, рябчик шахматовидный, тюльпан Биберштейна, касатик карликовый, пион тонколистный, прострел раскрытый. В мониторинге принимали участие Ю. А. Климентенко (2001–2002 гг.), И. В. Полозова (2008–2010 гг.), М. Г. Котельникова (2012–2015 гг.). Сбор растительного материала проводился как в природных популяциях, так и с растений в культуре в Красноярском районе (с. Старо-Семейкино). Часть семян и плодов была передана нам сотрудниками Ботанического сада Самары. Для партий семян, сформированных случайным образом (100 – для мелкосемянных, 20 – для крупносемянных), в лабораторных условиях определяли массу и по полученным данным вычисляли показатель массы тысячи семян.

Согласно полученным данным, наибольшую стабильность показателей демонстрируют крупносемянные растения (пион тонколистный, касатик карликовый). Так, у пиона тонколистного показатель массы тысячи семян варьирует в пределах 37,00–61,60 г (средняя масса – 54,70 г), у касатика низкого – 21,00–39,50 г (29,78 г), прострела раскрытого – 0,79–5,60 г (2,49 г), рябчика шахматовидного – 1,15–2,30 г (1,59 г), рябчика русского – 1,51–2,20 г (1,75 г), тюльпана Биберштейна – 1,80–4,42 г (2,58 г).

Разнокачественность семян мелкосемянных и крупносемянных видов, вероятно, связана с тем, что растения с мелкими семенами воспроизводят больше семян в плоде, чем крупносемянные. Подобная множественность оплодотворения способствует гетероспермии (внутривидовой разнокачественности). Последняя может быть результатом многих факторов: влияния условий окружающей среды на развивающееся семя, различий в местонахождении семени на материнском растении, неодновременного прохождения этапов морфогенеза, особенностей анатомического строения проводящих систем, различий в деятельности ассимиляционного аппарата, в питании минеральными веществами и снабжении водой.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА КОПИЙ ГЕНОВ FcγRIII

Н. В. Красногорова, Ю. Д. Хромина, Д. В. Новиков

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
natalya_krasnogo@mail.ru

Степень восприимчивости к инфекционным заболеваниям, предрасположенность к онкологическим и ответ на лечение с использованием препаратов моноклональных антител зависит от генетической изменчивости. Одними из таких генетических вариантов в геноме человека являются вариации количества копий генов (CNV от англ. copy number variation), возникающие в ходе эволюции из-за периодических неаллельных гомологичных рекомбинаций. Так, для гена, кодирующего рецептор третьего типа для γ цепи Fc фрагментов антител (FcγRIII), который представлен двумя паралогичными и идентичными на 98% генами: FcγRIIIα и FcγRIIIβ, расположенными на 1q23 хромосоме человека, описаны CNV, которые являются общими для разных этнических групп. Изменения в дозе гена, могут привести к различиям в экспрессии FcγRIII у отдельно взятых лиц. В связи с этим целью работы явилась разработка метода определения количества копий генов FcγRIII на основе ПЦР в реальном времени.

На основе различий в нуклеотидной последовательности в 4 экзоне ДНК генов FcγRIIIα и FcγRIIIβ, зарегистрированных в базе данных NCBI (США) под номерами NG_009066.1 и NG_032926.1, соответственно, подобраны обратные праймеры специфичные к каждому из генов. Также использован универсальный для двух генов прямой праймер, расположенный в 3 интроне, построенный по системе Taqman и подобран зонд в 4 экзоне, который используется для детекции обеих ДНК генов FcγRIII, содержащий флуорофор Rox и гаситель флуоресценции BHQ-2. По результатам анализа литературных данных в качестве референтного гена выбран ген убиквитина С (UBC), который содержит одну копию и показана возможность его использования для нормализации уровня экспрессии генов в периферической крови и опухолевых клетках больных колоректальным раком (КРР). Зонд UBC содержит флуорофор Cy5 и гаситель флуоресценции RTQ-2.

Выполнена оптимизация условий проведения ПЦР в реальном времени и определена эффективность реакции при проведении амплификации ДНК FcγRIII и UBC в одной пробирке. Наиболее оптимальными условиями для проведения ПЦР в реальном времени является использование Mg^{2+} с концентрацией 2,0 при подобранных условиях: +94°C – 10 сек., +94°C – 20 сек., +60°C – 20 сек., +72°C – 20 сек. в течение 50 циклов амплификации ДНК.

Разработанный метод для определения количества копий генов FcγRIII относительно ДНК UBC апробирован на образцах периферической крови 4 больных КРР, прошедших лечение в Нижегородском областном клиническом онкологическом диспансере, Нижнего Новгорода. Нуклеиновую кислоту выделяли методом экстракции смесью фенола с хлороформом. Концентрации нуклеиновых кислот в препаратах выравнивали по содержанию суммарной ДНК, и проводили ПЦР в реальном времени. Количество копий ДНК исследуемых генов оценивали методом сравнения пороговых циклов ($\Delta\Delta Ct$) относительно уровня ДНК UBC.

Установлено, что у первого и второго больных КРР обнаружено четыре копии гена FcγRIIIα и четыре копии гена FcγRIIIβ, у третьего – три копии гена FcγRIIIα и одна копия гена FcγRIIIβ, у четвертого больного – четыре копии гена FcγRIIIα и две копии гена FcγRIIIβ.

Таким образом, подтверждено существование вариаций в количестве копий генов FcγRIII. Разработанный метод позволяет определять количество копий генов FcγRIII на основе ПЦР в реальном времени.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №16-14-10179. Программа: «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами».

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ДИАПАЗОНА

С. С. Куваева, Ю. Н. Хламова, А. И. Цветков, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
derugina69@yandex.ru

К концу XX века все диапазоны электромагнитного излучения оказались изучены, исключая три частотные декады, расположенные между СВЧ и инфракрасным диапазонами – от 100 ГГц (3 мм) до 100 ТГц (3 мкм). Сегодня этот ТГц диапазон оказался на переднем крае исследований и разработок. Исследования терагерцового диапазона излучения на сегодняшний день идут очень интенсивно, что обусловлено особенностью действия ТГц-диапазона, спектры которого соответствуют колебательные и вращательные характеристикам большинства окружающих нас веществ, в том числе, различным клеточным метаболитам. Целью работы являлось изучение влияния электромагнитного излучения терагерцового диапазона на электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) и концентрацию аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ). В работе исследовали действие различных режимов ЭМИ ТГц на кровь *in vitro*. В качестве источника ЭМИ ТГц применяли гиратрон (производство ИПФ РАН, Нижний Новгород) с рабочей частотой излучения 263 ГГц, мощностью 0,1–20 мВт/см². Исследовали ЭФПЭ, концентрацию АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах. Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

При сравнении воздействия терагерцовых волн на электрокинетические свойства эритроцитов было показано, что действие ЭМИ ТГц в течение 15 минут в непрерывном и в дробном режимах приводило к снижению ЭФПЭ независимо от мощности воздействия с периодическим нелинейным увеличением ЭФПЭ. При непрерывном воздействии 1 мин ЭФПЭ уменьшалась при минимальной мощности исследуемого воздействия, дальнейшее увеличение мощности излучения приводило к увеличению ЭФПЭ с постепенным его восстановлением при максимально используемой мощности излучения. Исследование концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах при действии ТГц диапазона выявило, что концентрация АТФ в эритроцитах крови при действии исследуемого диапазона мощности значительно понижалась относительно значений контроля, тогда как концентрация 2,3-ДФГ увеличивалась. Следует отметить, что в отличие от непрерывного воздействия ТГц в течение 15 мин, при дробном облучении наблюдалось увеличение 2,3-ДФГ в диапазоне мощностью излучения 0,1–1 мВт/см². Таким образом, ТГц-воздействия оказывают модифицирующее действие на электрокинетические показатели эритроцитов и их метаболизм, что может быть опосредовано узконаправленным действием ТГц-излучения на механизмы внутриклеточной регуляции.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ и Министерства промышленности и инноваций Нижегородской области в рамках научного проекта №15-44-02358 «р_поволжье_а».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ TNF В МЫШИНОЙ МОДЕЛИ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ LPS/D-GAL

***К. А. Кувалдина¹, Е. А. Василенко¹, К. Д. Ермакова¹, И. В. Астраханцева¹,
Г. А. Ефимов^{1,2}, Д. С. Шварев², Ф. Н. Розов^{1,3}, С. В. Тиллиб⁴, Д. В. Новиков¹,
А. А. Круглов^{1,3}, С. А. Недоспасов¹⁻³***

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kuvaldinaksen@gmail.com

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

⁴Институт биологии гена РАН, Москва

Согласно данным клинических исследований, нейтрализация фактора некроза опухоли (TNF, англ. tumor necrosis factor) с помощью рекомбинантных специфических ингибиторов обладает существенным терапевтическим эффектом в ряде аутоиммунных заболеваний, а исследования с использованием генетически модифицированных мышей с геном, кодирующим человеческий локус TNF (hTNF) (гуманизированные мыши), являются одними из самых перспективных экспериментальных моделей, позволяющих изучать роль TNF.

Целью настоящей работы явилось определение биологической активности ингибиторов фактора некроза опухоли *in vivo* на примере мышинной модели гепатотоксичности, индуцированной введением LPS/D-Gal.

В ходе исследования использовали биспецифические наноантитела BV1 и BV1-C, обладающие высокой аффинностью к TNF. Наличие домена, связывающего поверхностный маркер макрофагов мыши F4/80, в составе BV1 позволяет узнавать и удерживать производимый макрофагами TNF, обеспечивая тем самым его селективную блокировку. В отличие от BV1, в состав BV1-C помимо TNF-связывающего участка, входит домен против лактоферрина.

В ходе работы были проведены эксперименты по определению биологической активности ингибиторов BV1 и BV1-C *in vivo* в модели острой гепатотоксичности, индуцированной внутрибрюшинным введением летальной дозы липополисахарида (0,4 мкг LPS) и Д-галактозамина (800 мкг D-Gal). Для этого концентрацию вводимого белка BV1 титровали с уменьшением от 5 мкг/г до 0,625 мкг/г веса мыши, а концентрацию BV1-C – от 15 мкг/г до 2 мкг/г. Минимальная концентрация BV1, сохраняющая 100% выживаемость мышей, составила 1,5 мкг/г. Та же концентрация BV1-C приводила к гибели подопытных животных, которые выживали лишь при увеличении дозировки до 3 мкг/г веса мыши.

Таким образом, селективное TNF-блокирование более эффективно в данной модели по сравнению с системным.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства РФ и Министерства образования и науки РФ (грант № 14.Z50.31.0008).

ОБНАРУЖЕНИЕ МИКРОКАЛЬЦИФИКАТОВ (ТЯЖЕЛЫХ СФЕРИЧЕСКИХ МИКРОЧАСТИЦ) В МЯГКИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ НА ПРИМЕРЕ ЖЕЛАТИНОВЫХ ФАНТОМОВ

А. А. Кудашова, Л. А. Чукилева, И. Ю. Демин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kudashova.anastasiya@gmail.com

Разработка метода, позволяющего обнаружить рак молочной железы на ранней стадии одна из важнейших задач современной медицинской диагностики. Главным диагностическим параметром являются скопления кальция – микро- и макрокальцификаты, образующиеся в тканях. В зависимости от их размера, формы и количества можно судить о стадии развития заболевания.

В настоящее время основным методом обнаружения кальцификатов является рентгеновская маммография, обладающая высокой точностью. Недостатком данного метода является то, что, использование рентгеновских лучей в качестве основного инструмента методики сканирования, предполагает накопление с течением времени в организме женщины некоторой дозы радиации, которая может спровоцировать образование новой опухоли.

В данной работе для обнаружения микрокальцификатов в ткани молочной железы предлагается использовать метод сдвиговой эластографии (SWEI), мягких биологических тканей. Данный метод реализован в лаборатории «Биомедицинских технологий, медицинского приборостроения и акустической диагностики (МедЛаб)» (кафедра акустики радиофизического факультета ННГУ им. Н.И. Лобачевского). Для этих целей была задействована акустическая система Verasonics с открытой архитектурой, которая позволила исследовать сдвиговые характеристики (скорость сдвиговой волны и модуль сдвига) в изготовленных в лаборатории желатиновых фантомов с включениями в виде шариков различных размеров (от 100 до 2000 мкм) и различной плотности. В результате экспериментальных исследования предложена методика определения размерности временных зависимостей смещения их относительно однородной среды.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (15-42-02586).

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЧЕТАННОСТИ ДЕЙСТВИЯ БЕТА-ЭМИТТЕРА И ИММУНОТОКСИНА DARPin-ETA В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Д. Л. Кудряшова¹, Н. Ю. Шилягина¹, А. В. Сень², А. В. Любешкин³, Н. О. Антонова¹, Е. Л. Гурьев¹, А. А. Третьяков¹, В. А. Воденев¹, И. В. Балалаева¹, С. М. Деев^{1,4}, А. В. Звягин¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dahenkakyd@mail.ru

²НТЦ «Амплитуда», 124460, Зеленоград, просп. Генерала Алексева, 15

³Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,
119991, Москва, Ленинский просп., 47

⁴Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

На сегодняшний день разработка новых методов и подходов для терапии онкологических заболеваний является одной из наиболее актуальных и активно развивающихся областей биологии и медицины. Ведущим трендом в этой области является разработка агентов для сочетанной терапии с возможностью направленной доставки таких агентов к целевым тканям и органам. Целью данной работы являлось исследование сочетанности действия радиоактивных нанофосфоров и иммунотоксина DARPin-ETA в отношении опухолевых клеток с различным уровнем экспрессии рецептора HER2.

В работе были исследованы фотолюминесцентные кристаллы $\text{Na}^{90}\text{YF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+}$ покрытые SiO_2 и содержащие в своем составе бета-активный ^{90}Y (далее радНАФ). В качестве второго токсического компонента был исследован рекомбинантный иммунотоксин DARPin-ETA на основе экзотоксина А из *Pseudomonas aeruginosa* и направляющей молекулы, специфично связывающейся с онкомеркером HER2.

Исследования проводились на клеточных линиях SK-BR-3 (аденокарцинома молочной железы человека, гиперэкспрессия HER2) и CHO (клетки яичника китайского хомячка, отсутствие экспрессии HER2). Для подбора доз ионизирующего излучения, оказывающих цитотоксическое действие в отношении опухолевых клеток, использовался закрытый источник $^{90}\text{Sr}^{90}\text{Y}$ (^{90}Sr в составе соли $^{90}\text{SrCl}_2$) мощностью дозы 0,5 Гр/час и активностью 1 МБк. Жизнеспособность клеточных культур после воздействия (закрытый источник $^{90}\text{Sr}^{90}\text{Y}$, радНАФ, иммунотоксин DARPin-ETA и сочетанность действия радНАФ и иммунотоксина DARPin-ETA) оценивалась с помощью МТТ-теста.

В процессе работы были подобраны оптимальные дозы воздействия ионизирующего излучения в отношении опухолевых клеток в культуре и показано, что поглощенная доза, которая вызывает гибель половины клеток от числа контрольных (не подвергшихся облучению клеток) составляет 5,2 Гр. Дозы свыше 18 Гр приводят к гибели более 80 % клеток от числа контрольных. Оценка цитотоксичности радНАФ показала, что IC50 для клеток SK-BR-3 составляет 220 мкг/мл, что соответствует поглощенной дозе 4,6 Гр, для клеток CHO IC50 составляет 20 мкг/мл (0,4 Гр), что свидетельствует о различной радиочувствительности используемых клеточных моделей – рак молочной железы относится к опухолям с относительной резистентностью к редкоионизирующему излучению. Эксперименты по исследованию сочетанности действия радНАФ и DARPin-ETA показали, что совместное использование двух цитотоксических агентов снижает жизнеспособность клеток SKBR-3 в 1,3 и 1,8 раза по сравнению с радНАФ при поглощенных дозах 2,8 Гр и 5,5 Гр соответственно. Для клеток линии CHO выраженного сочетанного действия исследуемых цитотоксических агентов выявлено не было. Полученный результат позволяет сделать заключение, что многофункциональный нанопрепарат на основе радНАФ и иммунотоксина DARPin-ETA обладает выраженным сочетанным терапевтическим действием в отношении опухолевых клеток SK-BR-3, характеризующихся гиперэкспрессией рецептора HER2.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (Соглашение №RFMEFI57814X0030).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЯДА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

Н. И. Кузнецова¹, Е. В. Важдеева¹, Е. С. Касатова¹, В. Г. Фирсова², В. В. Новиков¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
reputwjdf59@yandex.ru

²Городская больница № 35, 603029, Нижний Новгород, ул. Республиканская, 47

Острый панкреатит (ОП) является одним из самых распространенных и тяжелых воспалительных заболеваний. Повышенное внимание врачей к этому заболеванию обусловлено высоким процентом смертности пациентов (20–25%), не имеющим тенденции к снижению. Летальность при данной патологии обусловлена в основном развитием тяжелых некротических форм, вызывающих системную воспалительную реакцию организма (СВР). Проблема диагностики ОП на ранних стадиях и прогнозирования течения заболевания остается актуальной в настоящее время. Одним из перспективных методов исследования тяжести ОП является иммуноферментный анализ (ИФА). Данный метод обладает высокой чувствительностью, относительно невысокой стоимостью, достаточно широко распространен. С его помощью можно определить уровень различных молекул – прогностических маркеров заболевания, в частности, измерить содержание растворимых дифференцированных антигенов, важных для исследования молекулярных механизмов патогенеза ОП. В частности, в настоящее время методом ИФА активно исследуется сывороточный уровень sCD25, sCD38 и sCD95. Так, установлено, что сывороточное содержание CD25 может отражать уровень активации Т-лимфоцитов, CD95 (Fas/АРО-1) играет важную роль в процессе апоптоза, однако содержание растворимой формы может увеличиваться в ходе некротических процессов, CD38 является гидролазой циклической АДФ-рибозы и может быть задействована в нарушении Ca²⁺ сигналов в ацинарных клетках поджелудочной железы. Следует отметить, что литературные данные, касающиеся уровня этих молекул при ОП немногочисленны и противоречивы. В то же время, подобные исследования помогут лучше изучить иммунологические особенности течения и этиопатогенез данного заболевания.

Объектом нашего исследования явилась сыворотка крови больных ОП, госпитализированных в инфекционные стационары Москвы и Нижнего Новгорода (83 образца) и сыворотка крови здоровых доноров (63 образца). Иммуноферментный анализ типа «сэндвич» проводился с использованием поликлональных козьих антител для сорбции, моноклональных мышинных антител серии ИКО для конъюгирования. Измерение оптической плотности проводили на фотометре при длине волны 450 и 620 нм. Полученные данные обрабатывали с помощью программы STATISTICA 8.0.

При анализе результатов было установлено достоверно снижение уровней sCD25, sCD38 в группе пациентов, больных ОП в сравнении с контрольной группой доноров в 1,4 раза и 1,3 раза соответственно. Достоверных различий в содержании растворимой формы CD95 у больных ОП и контрольной группой не было выявлено. Мы предполагаем, что наблюдаемое снижение содержания sCD25 и sCD38 у больных ОП связано с иммуносупрессией. Непосредственное влияние на ее возникновение могут оказывать панкреатогенные токсины, нарушения механизмов гуморальной регуляции иммунитета (которые в частности могут быть вызваны применением антибиотических препаратов) и возникающий синдром компенсаторного противовоспалительного ответа.

ДИНАМИКА МК-801 ЗАВИСИМОГО ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЫ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ

Д. М. Кузьмина¹, И. И. Белоусова², И. В. Мухина²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dariak2294@gmail.com

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Целью исследования является изучение отдаленных последствий длительной блокады NMDA-рецепторов на комплекс поведенческих реакций мышей, отражающих фенотип поведения при моделировании шизофрении в эксперименте.

Исследование проводилось на мышах линии C57BL/6j (самцы), возраст 8 недель, $n=30$; использовался неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов – МК-801. Использовались следующие поведенческие методики: исследование пространственной рабочей памяти (радиальный лабиринт), социальное поведение (тест Кроули), двигательной активности (Aktimeter), рабочей памяти в челночной камере (Shuttle box).

При исследовании изменений пространственной рабочей памяти в радиальном лабиринте на фоне введения препарата МК-801 было выявлено постепенное ухудшение пространственного ориентирования животного, обусловленного нарушением работы нейронных сетей гиппокампа. Сниженная пространственная рабочая память сохранялась и в течение последующих после отмены блокатора NMDA-рецепторов 10 дней. Исследование социальной активности животных после 10-дневного введения МК-801 не выявило достоверных различий между экспериментальной и контрольной группами, однако отмечалось увеличение вариабельности показателей социального поведения у животных после введения МК-801. При исследовании удаленных эффектов МК-801 на ориентировочно-исследовательскую рефлекторную активность было обнаружено достоверное различие числа вертикальных стоек у экспериментальной и контрольных групп. Изучение рабочей памяти при формировании условного рефлекса пассивного избегания в отдаленном периоде после блокады NMDA-рецепторов не выявило различий между экспериментальной и контрольными группами, что говорит о восстановлении структуры нейронных сетей в области фронтальной коры, ответственных за хранение и извлечение долговременной памяти при формировании условного рефлекса в челночной камере. Таким образом, курсовое введение блокатора глутаматных NMDA-рецепторов вызывает стойкое изменение поведения животных, выявленное при поведенческом фенотипировании долговременной памяти, социального и двигательного поведения, что может быть использовано при скрининге новых психотропных препаратов, направленных на лечение психических заболеваний, в том числе шизофрении.

Исходя из результатов, сделаны следующие выводы. 1) МК-801 вызывает ухудшение пространственной рабочей памяти, но не рабочей памяти, исследуемой в челночной камере при формировании условного рефлекса пассивного избегания в отдаленный период после отмены блокады NMDA-рецепторов, что свидетельствует о более глубоком нарушении структуры нейронных сетей в области гиппокампа, чем фронтальной коры. 2) Социальная активность животных имеет недостоверные изменения через 10 дней после 10-дневного курса введения МК-801, однако прослеживается недостаток общительности, обнаружены резкие колебания показателей социального поведения экспериментальных животных, что свидетельствует о сохранности изменения социального поведения в отдаленном периоде после отмены блокады NMDA-рецепторов. 3) Вертикальная двигательная активность животных, отражающая ориентировочно-исследовательский рефлекс, не восстанавливалась через 10 дней после 10-дневного курса введения МК-801.

ОЦЕНКА СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ПОТАМОПЛАНКТОНА НЕКОТОРЫХ ЛЕВОБЕРЕЖНЫХ ПРИТОКОВ ЧЕБОКСАРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

П. В. Кулизин, Е. Л. Воденева

Университет Лобачевского, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
June10.07.95as@yandex.ru

В последние десятилетия значительно возросло число водоемов, где отмечается изменение структуры фитопланктона в связи с экспансией чужеродных видов водорослей. Наиболее вероятные причины распространения чужеродных видов водорослей в водохранилищах Волги – гидростроительство и изменение климата. Решение проблемы последствий зарегулирования стока Волги неотделимо от исследования ее притоков, которые в значительной степени определяют ее гидрологический и гидрохимический режимы и служат «коридорами» для дальнейшего расселения видов. Цель данной работы – оценка современного состояния левобережных волжских притоков (реки Ветлуга и Керженец) по структурным показателям потамопланктона.

Материалом для работы послужили как архивные (р. Керженец, ГПБЗ «Керженский» – 1994–1997, 2000–2002, 2008, 2014 гг.; р. Ветлуга, среднее течение – 1986–1989; 2001; 2007–2008 гг.), так и собственные данные (р. Ветлуга – 2014 г.). Общее видовое богатство альгофлоры (с учетом литературных данных) р. Керженец составило 542, р. Ветлуги – 381 видовых и внутривидовых таксонов. Основу таксономического разнообразия в обоих водотоках формировали отделы зеленых (35 и 45% от альгофлоры соответственно) и диатомовых (24 и 26%) со значительным участием эвгленовых (10 и 13%) и золотистых (6 и 7%) водорослей. Трофический статус водотоков за весь период исследований менялся незначительно и соответствовал слабо мезотрофному, либо мезотрофному уровню (средневегетационная биомасса в Керженце 0,52–2,07 г/м³, в Ветлуге – 0,37–4,38 г/м³). Однако ценотическая структура фитопланктона претерпевала заметные изменения. Так, ценотический тип потамопланктона р. Керженец в конце 90-х – начале 2000-х годов определяла центрическая диатомовая водоросль *Melosira varians* (группа Т_В согласно морфофункциональной классификации пресноводных водорослей) с максимальными значениями биомассы в период низких температур. В современный период роль диатомей снизилась и возросла доля динофлагеллят (представители лимнического комплекса из группы L₀) в летних альгоценозах. Среди них в группе руководящих видов отмечено присутствие инвазийного вида *Perediniopsis kevei*, что свидетельствует о процессах экспансии чужеродных видов водорослей в реке, уже отмеченных для Волжского бассейна. Биомасса данного вида показала заметную положительную корреляцию с температурой (коэффициент корреляции Спирмена $R_s=0,59$; $p \leq 0,05$), рН ($R_s=0,75$), электропроводностью ($R_s=0,61$), цветностью воды ($R_s=0,64$) и отрицательную – с уровнем воды ($R_s=-0,79$). В р. Ветлуге в конце 80-х годов основными компонентами фитопланктона также выступали центрические диатомовые водоросли, среди которых в числе доминирующих были представители групп Т_В (*Melosira varians*) и С (*Aulacosira subarctica*, *A. ambigua*, *Stephanodiscus* spp.). В современный период также наблюдается снижение роли диатомовых и очень слабое возрастание доли динофлагеллят и эвгленовых водорослей. В исследуемом водотоке, как и в р. Керженец, отмечено присутствие вселенцев – *P. kevei* и диатомовой водоросли *Plagiotropis* sp., виды последнего рода в настоящее время рассматриваются как вселенцы из Каспийского моря.

В целом, наиболее четко изменения структуры сообщества прослеживаются на реках средней протяженности, особенно в условиях маловодности, когда речные условия заменяются на лимнические. Это способствует распространению видов, не характерных для данных местообитаний. Для рек большей протяженности эти процессы выражены в меньшей степени и идут медленнее.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ЗАРАСТАНИЯ РЕКИ ЦНА В ОКРЕСТНОСТЯХ СЕЛА ПОКРОВСКОЕ (ТВЕРСКАЯ ОБЛАСТЬ)

А. С. Куприянов

Тверской государственной университет, 170100, Тверь, ул. Желябова, 33;
leschetchka@mail.ru

Водные и прибрежно-водные растения являются одним из важных компонентов водных экосистем. Растения водоемов служат пищей для моллюсков, ракообразных, насекомых, рыб, птиц и млекопитающих. Отдельные виды макрофитов могут служить индикаторами среды обитания. Однако чрезмерное развитие водной растительности в водоемах может иметь отрицательные последствия, особенно при питьевом водоснабжении, в судоходных и ирригационных каналах, и требует разработки методов борьбы с ним. Это определяет актуальность изучения прибрежно-водных растений. Целью данной работы является определение зарастания реки Цны в окрестностях с. Покровское (Фировский р-н, Тверская обл.).

Работа проводилась на 4 пробных площадях, заложенных на расстоянии около 200–300 м друг от друга для выявления степени зарастания водоема прибрежно-водной растительностью по методике Штермаха (1954). Степень зарастания определялась только по макрофитам, среди которых преобладали *Elodea canadensis*, *Scirpus lacustris*, *Potamogeton gramineus*, *P. perfoliatus*, *Carex riparia*, *C. pilosa*. В результате проведенных исследований установлено, что общее зарастание на всех пробных площадях составило 21–35%, что соответствует 4-му баллу по принятой шкале оценки.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВКЛЮЧЕНИЯ ИОНОВ МЕДИ В Т2/Т3 ЦЕНТР МУТАНТНОЙ
ФОРМЫ ЛАККАЗЫ *STREPTOMYCES GRISEOFLAVUS* С ЗАМЕНОЙ Н165F
И. О. Курина¹, О. С. Костарева², А. О. Михайлина², А. Г. Габдулхаков², М. Б. Гарбер²,
С. В. Тищенко²**

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
protres@vega.protres.ru

²Институт белка РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 4

Лакказы являются наиболее распространёнными медь-содержащими оксидазами, которые найдены во многих организмах. Эти ферменты катализируют окисление фенольных соединений кислородом. Предметом наших исследований являются двухдоменные (малые) лакказы, обладающие высокой термостабильностью, способностью катализировать окисление фенольных субстратов при щелочных значениях *pH* и высокой устойчивостью к ингибиторам. Недавно нами были определены кристаллические структуры двух малых лакказ *Streptomyces viridochromogenes* и *S. griseoflavus*.

Исходя из структурных данных, мы предположили, что гистидин в положении 165, расположенный во второй координационной сфере Т2/Т3 центра, участвует в формировании канала для растворителя. Для проверки этой гипотезы, мы заменили гистидин 165 в лакказе из *S. griseoflavus* на более крупный аминокислотный остаток фенилаланин. Мутантная форма белка с заменой Н165F ранее была выделена и закристаллизована, ее кристаллическая структура была определена. Структурный анализ показал, что в ферменте отсутствует атом меди Т2 центра и один из атомов меди Т3 центра. Поскольку активность лакказы зависит от количества атомов меди на молекулу фермента, для достоверных функциональных и структурных исследований необходимо получить фермент, в котором Т2/Т3 кластер полностью заполнен ионами меди.

Клетки *Escherichia coli* были трансформированы плазмидой на основе вектора pQE30, несущей ген лакказы из *S. griseoflavus* без сигнального пептида с заменой Н165F. Биомасса штамма-суперпродуцента *E. coli* была наработана в среде с повышенным (1 мМ) содержанием CuSO₄. Белок был очищен до гомогенного состояния хроматографией на Ni-NTA агарозе. Получены кристаллы белка, ведутся предварительные кристаллографические исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 15-04-03002-а) и Программы Президиума МКБ РАН.

СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ *PROVIDENCIA STUARTII* К РОЕНИЮ И МИГРАЦИИ ПО ПОВЕРХНОСТИ КАТЕТЕРОВ

Н. Р. Курмашева, В. Г. Евтюгин, А. М. Марданова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420000, Казань, ул. Кремлевская, 18;
naziya1993@mail.ru

Оппортунистические энтеробактерии *Providencia stuartii* являются частой причиной катетер-ассоциированных инфекций мочевого тракта и других внутрибольничных заболеваний. Также эти бактерии обладают множественной лекарственной устойчивостью, что существенно усложняет лечение. Наиболее частый диагноз, который ставят при заражении этими патогенами – антибиотико-резистентная бактериурия. Помимо устойчивости *P. stuartii* к противомикробным агентам, другим важным фактором вирулентности бактерий является способность к подвижности на разнообразных субстратах. Целью работы является характеристика подвижности бактерий *P. stuartii*, клеточной дифференцировки при роении и исследование способности к миграции через катетеры.

В работе использовали штамм *P. stuartii*, выделенный от урологического больного. Штамм был идентифицирован с помощью системы MALDI BioType и по гомологии гена 16S рРНК (99% гомологии со штаммом *P. stuartii* MRSN 2154). Для исследования жгутиковой подвижности бактерий использовали среду LB, содержащую 0,25–0,3% агара, для изучения роения – 0,5–1% агара. Клеточную дифференцировку бактерий при роении исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии (Carl Zeiss Merlin, Germany), структуру колонии на 0,6% агаре – с помощью световой микроскопии. Для исследования способности бактерий к миграции через катетеры использовали латексный силиконизированный катетер-баллон «Фолея» (Hamburg, Germany), который предназначен для длительного дренирования мочевого пузыря.

Показано, что бактерии *P. stuartii* обладают жгутиковой подвижностью и способны роиться на «мягких» средах (0,45–0,7% агаре). На сканирующей электронной микроскопии разных участков колонии с 0,6% агара было обнаружено, что бактериальные клетки с края колонии имеют удлиненную форму и достигают 7–8 мкм в длину. В то время как клетки из центра колонии и планктонные формы имели длину 1,5–2,5 мкм. Эти данные свидетельствуют о дифференцировке клеток при роении. Подобное явление наиболее ярко выражено у бактерий *Proteus mirabilis*. Поскольку способность к роению может играть критическую роль при инфицировании мочевыводящих путей пациентов, пребывающих с катетерами, важно исследовать способность бактерий к миграции по поверхности катетеров. На чашке Петри с 0,6% агаром по диаметру вырезали блок агара шириной 0,8 см, чтобы две части агаризованной среды не соприкасались между собой. Между плотами агара помещали в виде мостика сегмент катетера длиной 1 см. На одну сторону катетера наносили 5 мкл инокулята и инкубировали в течение 24 часов при +37°C. О способности к миграции через катетер судили по наличию роста культуры на неинокулированном плоте агара, к которому примыкает сегмент катетера.

Таким образом, показали, что штамм бактерий *P. stuartii*, выделенный от урологического больного, способен к жгутиковой подвижности и к роению, роение по твердой поверхности сопровождается дифференцировкой клеток по типу швермеров, также при данном типе подвижности бактерии способны к миграции через латексные катетеры.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной КФУ для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 14-83).

РАЗРАБОТКА БИОСОРБЦИОННОГО МОДУЛЯ ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ОЧИСТКИ НЕФТЕСОДЕРЖАЩИХ ВОД МАЛЫХ АВТОПРЕДПРИЯТИЙ

С. В. Кутмина, В. В. Заболотских

Тольяттинский государственный университет, Тольятти, ул. Белорусская, 14
s8eta.kutmina@yandex.ru

Вопросы, касающиеся загрязнения вод нефтепродуктами являются актуальными. Согласно статистике города Тольятти, на 1 июня 2007 г. в ГАИ города было зарегистрировано 243376 транспортных средств, из которых 75 % составляли легковые автомобили. По обеспеченности легковым автотранспортом на душу населения Тольятти занимает 17-е место в России (370 автомобилей на 1000 жителей). С ростом количества автомобилей увеличивается число станций по их обслуживанию. В Тольятти насчитывается уже около 360 таких станций. Основными загрязнителями сточных вод при этом являются взвешенные вещества, СПАВ и нефтепродукты. Учитывая, что последние относятся к веществам, которые с большим трудом окисляются на городских очистных сооружениях, есть необходимость очистки загрязненных вод непосредственно на самом предприятии перед сбросом в городскую канализацию.

В результате санитарно-гигиенических исследований в сточных водах автопредприятия (автомойки) выявлены следующие загрязняющие вещества: бензин, керосин, ангидрид серный и ангидрид сернистый, нитриты и нитраты, хлориды, сульфаты, железо, марганец. Все перечисленные вещества оказывают негативное влияние на здоровье человека, попадая в водоемы, пагубно влияют на живые организмы и качество воды.

Целью данной работы является снижение воздействия загрязнённых вод малых автопредприятий на окружающую среду путем разработки биосорбционного модуля локальной системы очистки сточных вод. В соответствии с заданной целью были поставлены следующие задачи: провести анализ состава и степени загрязнения сточных вод малых автопредприятий; провести сравнительный анализ методов очистки сточных вод; разработать модель локальной системы очистки сточных вод для малых автопредприятий на основе применения биосорбционного фильтра; разработать модельную конструкцию биосорбционного фильтра для локальной системы очистки и провести экспериментальные исследования эффективности очистки воды от нефтепродуктов различными видами сорбентов и их модификаций.

Высокой эффективности установки планируется достичь в результате совершенствования сорбционного фильтра и повышения активности сорбентов к удалению нефтепродуктов из воды на основе их модификации и экспериментального выявления наиболее эффективных сорбционных комплексов. Применение локального комплекса очистки вод от нефтепродуктов на основе биосорбционного фильтра позволит очищать воду автомоек и других малых автопредприятий до соответствия нормативным показателям. В целях экономии водных ресурсов предлагается внедрить замкнутый цикл оборотного водоснабжения. При помощи высокой степени очистки вода будет пригодна для повторного использования на предприятии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ЗАЩИТЫ К ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТКА И ИЗБЫТКА МИКРОЭЛЕМЕНТА КРЕМНИЯ

Г. Э. Куюкинова

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова,
428015, Чебоксары, просп. Московский, 15; *gerlyana@mail.ru*

На основе экспериментального материала прослежено формирование естественных физиологических механизмов защиты и специфического иммунитета, проявлений туберкулеза в сравниваемых биогеохимических субрегионах Чувашской Республики: Прикубниноцивильского – с недостатком микроэлемента кремния и его избытком в Присурском. Установлено, что дефицит микроэлемента кремния в организме интактных животных приводит к ослаблению естественных физиологических механизмов защиты: снижению количества лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, общего белка, α_2 - и γ -глобулинов в периферической крови, функциональной активности нейтрофилов на 57% и лимфоцитов 170% по сравнению с мышами, находившимися на кремнийизбыточном рационе.

На фоне дефицита микроэлемента кремния при экспериментальном туберкулезе у животных угнетается специфический клеточный иммунитет – снижается функциональная активность Т-лимфоцитов на 38%. В этих условиях морфологические изменения во внутренних органах становятся более выраженными, высеваемость микобактерий туберкулеза из них повышается. Перевод животных на рацион с избытком микроэлемента кремния и проведение лечения противотуберкулезными препаратами в течение трех месяцев обеспечивает иммунокоррекцию – повышение реакции бласттрансформации лимфоцитов как со специфическими, так и неспецифическими митогенами в пределах 37–41%, формирование минимальных морфологических изменений в легких, гиперплазию фолликулов селезенки.

Исследовано иммунокорректирующее воздействие микроэлемента кремния при лечении туберкулеза экспериментальных животных со сниженным иммунным статусом, сформировавшимся в условиях недостатка микроэлемента кремния.

Содержание кремния в печени как интактных, так и экспериментальных мышей, получавших рацион с избытком изучаемого микроэлемента, выше по сравнению с животными, находившимися на рационе с его недостатком на всех сроках исследования. Патологическое значение данного микроэлемента определяется устойчивой корреляционной связью с основными проявлениями экспериментального туберкулеза: функциональной активностью лимфоцитов в реакции бласттрансформации со специфическим митогеном H37Rv ($r=+0,79$), титрами специфических иммуноглобулинов G ($r=-0,57\dots-0,62$), высеваемостью микобактерий из гомогената селезенки ($r=-0,51$).

СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ КРОВИ КРЫС ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ОКСИДА АЗОТА

Е. В. Ладыженко¹, А. Г. Соловьева²

¹ Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sannag5@mail.ru

² Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр,
603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18/1

Оксид азота (NO) – универсальный регулятор клеточного и тканевого метаболизма (Абатуров, 2009). С одной стороны, действие оксида азота опосредовано его концентрацией. С другой стороны, усиленная продукция активных форм кислорода и азота вызывает окислительный и нитрозативный стресс, чрезмерную интенсификацию перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Гриневич и др., 2003). Поэтому исследование длительного воздействия различных концентраций NO на окислительный метаболизм крови представляет несомненный интерес. Целью данной работы явилось изучение влияния NO в концентрациях 20 ppm, 50 ppm и 100 ppm на про- и антиоксидантную системы крови интактных крыс при его длительном ингаляционно-наружном применении.

Эксперимент проведен на белых крысах-самцах линии Wistar. Из 23 крыс массой 200–250 г. сформировали 4 группы: 1 – контроль (интактные здоровые животные, $n=8$); 2, 3, 4 – опытные ($n=5$ в каждой), крысы которой были подвергнуты ежедневному ингаляционно-наружному воздействию NO (по 10 мин) с концентрацией 20 ppm, 50 ppm и 100 ppm соответственно в течение 30 дней. Крыс 2, 3, 4 групп выводили из эксперимента на 30-е сутки путем декапитации под наркозом (Золетил + Ксила). Синтез газовой смеси производили с помощью аппарата для генерации NO, разработанного в РФЯЦ-ВНИИЭФ (Саров). В плазме и эритроцитах изучали активность ПОЛ с помощью индуцированной биохемиллюминесценции на БХЛ-06 (Нижний Новгород), определяли содержание вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) – методом М. Uchiyama, М. Mihara. В гемолизате отмытых эритроцитов оценивали активность супероксиддисмутазы (СОД). Результаты исследований обрабатывали с использованием Statistica 6.0. Значимость различий между показателями определялась с помощью t-критерия Стьюдента.

Показано снижение ПОЛ в плазме при использовании NO в концентрации 20 ppm на 10%, при 50 ppm – на 24% по сравнению с интактными животными. В эритроцитах выявлено статистически значимое уменьшение ПОЛ при применении 20 ppm NO – на 52%, при 50 ppm – на 45%, при 100 ppm – на 33% по сравнению с контролем. При этом уровень МДА у животных 2, 3 и 4 групп также уменьшился при использовании NO в концентрации 20 ppm – на 43%, при 50 ppm – на 31%, при 100 ppm – на 28% по сравнению со здоровыми крысами. При применении 100 ppm NO отмечен рост МДА в эритроцитах на 19% по сравнению с контролем. Выявленные изменения прооксидантного статуса находятся в тесной взаимосвязи с состоянием антиоксидантной системы защиты. Выявлен рост общей антиоксидантной активности плазмы крови при применении NO в концентрации 20 ppm на 29%, при использовании 50 ppm – на 8%, при 100 ppm NO – на 4% по сравнению с контролем. Исследование удельной активности СОД, фермента первой линии антиоксидантной защиты, выявило ее повышение после воздействия NO в концентрации 20 ppm, 50 ppm и 100 ppm на 8%, 55% и 41% соответственно по сравнению с контролем, что обеспечивает эффективную защиту клеточных структур от образующихся высокотоксичных кислородных радикалов.

Таким образом, отмечено снижение интенсивности ПОЛ в плазме и эритроцитах крови крыс при ингаляционно-наружном применении NO на протяжении 30 суток. Длительное использование NO вызвало повышение СОД эритроцитов. Показано, что оптимальной дозой для ингаляционного применения NO может быть 20 ppm, при использовании которой отмечено повышение общей антиоксидантной активности.

БРИОФЛОРА БОГОРОДСКОГО РАЙОНА НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Т. А. Ларина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Larina23-02@yandex.ru

В связи с интенсивной хозяйственной деятельностью человека особую актуальность приобретают вопросы полной инвентаризации региональных флор. Мохообразные, являясь неотъемлемым компонентом растительных сообществ, играют важную роль в поддержании их структуры и функционирования. Однако они по-прежнему остаются одной из наименее изученных групп среди высших растений. Целью данной работы является изучение бриофлоры Богородского района. Для реализации данной цели был проведен анализ литературных (Воробьев, 1983) и доступных гербарных данных (гербарий ННГУ), а также собственных материалов.

Исследования проведены маршрутно-рекогносцировочным методом с июля по октябрь 2014–2015 гг. Маршруты закладывались таким образом, чтобы охватить все разнообразие местообитаний в следующих локалитетах: г. Богородск, окрестности д. Демидово, Победиха, Ключищи, Каменки, Куликово, Выползово, Оранки, с. Дуденево, Хабарское, Афанасьевое и пос. Песочное. Всего собрано около 400 образцов мохообразных.

В результате проведенного исследования составлен аннотированный список мохообразных, включающий 138 видов, из них 53 вида известно по литературным данным, 85 – по имеющимся образцам; среди них Marchantiophyta – 20 видов и 3 разновидности (14 родов, 12 семейств), Bryophyta – 118 видов и одна разновидность (65 родов, 30 семейств).

При определении собственных сборов обнаружено 3 вида дополнительных для бриофлоры Нижегородской области: *Brachythecium capillacium*, *Schistidium dupretii*, *Riccia cavernosa*, и 12 дополнительных видов для бриофлоры Богородского района: кроме названных *Bryum elegans*, *B. funkii*, *B. capillare*, *Serpoleskea subtilis*, *Sciuro-hypnum curtum*, *Platygyrium repens*, *Neckera pennata*, *Schistidium apocarpum*.

Таксономический анализ показал, что 9 ведущих семейств объединяют 55,8% видов бриофлоры района. Наибольшее число видов принадлежит к семействам Brachytheciaceae (13), Amblystegiaceae и Pottiaceae (по 11 видов), ведущими родами являются *Bryum* (9 видов) и *Brachythecium* (6).

В фитогеографическом отношении наибольшее число видов принадлежит мультizonальному геоэлементу (27,35%), велика роль неморального (22,2%) и бореального (20,5%) геоэлементов в сложении бриофлоры района. Почти все виды мхов Богородского района Нижегородской области имеют широкие циркумполярные (35,04 %) и биполярные (61,50 %) ареалы. Остальные типы ареалов представлены незначительно. Наибольшее число видов (82) отмечено в лесных сообществах, среди субстратных групп доминируют эпигеи (81).

Таким образом, проведенный флористический анализ показал, что бриофлора Богородского района может характеризоваться как бореально-неморальная. Высокая доля мультizonального геоэлемента свидетельствует о высокой степени хозяйственной освоенности территории района.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА НАСТИЧЕСКИЕ ДВИЖЕНИЯ УСИКОВ ГОРОХА

Л. А. Лебедева¹, П. М. Сеницын²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

lebedeva-l-l-a@ya.ru

²Лицей № 28 им. академика Б.А. Королева, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 8

В качестве одной из перспективных гипотез, объясняющих механизм восприятия живыми клетками низкочастотные переменные магнитные поля, является предположение о возможности прямого нетеплового воздействия переменного магнитного поля на молекулы воды. Орто- и пара-изомеры воды, отличающиеся направлением спинов протонов, различаются способностью вращаться и адсорбироваться на поверхности биомолекул. Низкоинтенсивные переменные магнитные поля, изменяя соотношение орто/пара-молекул воды, теоретически способны изменять биологическую активность биомолекул, клеток и всего организма в целом. В растениях вода играет важную структурную роль. Регулируя тургорное давление клеток, растение способно двигаться – реализовывать тропизмы и настии. В связи с этим, целью работы явилось исследование влияния низкочастотного переменного магнитного поля на движение органов растений.

Объектом исследования служили двухнедельные растения гороха, выращенные методом водной культуры. Сосуд с растением помещали в терапевтическую установку. Экспериментальные растения гороха были подвергнуты воздействию переменными магнитными полями напряженностью 3,5 Тл и частотой 100 Гц с помощью установки УМТИ-3Ф "Колибри". Сверху соленоидов были смонтированы светодиоды, дававшие в совокупности белый свет, а также видеокамера. Сосуд с растениями помещали в центр соленоидов, затем включали свет. Через полчаса световой адаптации включали видеозапись, а еще через полчаса включали генератор магнитного поля на 2 часа. После выключения магнитного поля растения еще в течение получаса находились в установке с включенным светом. Видеозапись одного эксперимента длилась 3 часа. Количество повторов – 5. В контрольном варианте вели видеозапись растений, находящихся в выключенной установке с включенным светом в течение 3 часов. На основе видеозаписей монтировали gif-ролики для ускорения просмотра, для чего делали подборку из кадров каждой сотой секунды записи. Набор кадров собирали в единый файл с помощью программы Easy Gif Animator с задержкой между кадрами 0,1 с.

Наиболее активно у растений гороха двигались усики – на видеозаписях хорошо видны их круговые движения. В период действия переменного магнитного поля скорость и амплитуда этих движений становились больше, а после выключения эти настии замедлялись. Поскольку движения усиков гороха в основном регулируются изменением тургорного давления клеток, можно предположить, что переменные магнитные поля ускоряли перемещение воды между клетками этих видоизмененных побегов. Иными словами, магнитное поле изменяло водный режим в клетках усиков. Полученные результаты не противоречат гипотезе о возможности воды быть молекулярной мишенью переменных магнитных полей в клетке.

ПОЛУЧЕНИЕ БИОСОВМЕСТИМОЙ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩЕЙ МЕТКИ МЕТОДОМ КЛИК-ХИМИИ

В. С. Лиж, С. Ю. Бухвалова, А. А. Малеев, А. В. Юдинцев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mircreack@yandex.ru

Клик-химия является одной из динамично развивающихся ветвей науки. Она позволяет конструировать органические молекулы с заданными свойствами. С помощью биосовместимых компонентов клик-реакций можно маркировать биополимеры флуоресцентными метками, что позволяет исследовать особенности метаболизма и транспорта биомолекул в клетке *in situ*. Одной из проблем применения прижизненных красителей для визуализации клеток растений является их адсорбция на клеточной стенке, ухудшающая качество изображения из-за низкой загрузки красителя в клетку и появления яркого фона вокруг клетки. Кроме того, растительные клетки обладают довольно сильной автофлуоресценцией в диапазоне, близком к таковым продуктам алкил-азидных клик-реакций. Пропаргилглицин является алкилированной аминокислотой, имеются сообщения, что он хорошо проникает в клетки бактерий и может встраиваться в белки вместо аланина, клик-реакция с азидным производным позволяет визуализировать модифицированные пропаргилглицином белки. Целью данной работы явилась апробация методики алкил-азидной клик-химии на клетках корней растений с последующим подбором оптимальных условий ее проведения.

Проростки пшеницы (3–4-дневные) помещали корнями в смесь, содержащую пропаргилглицин и 0,1 М КСl (для создания изотонической среды) на срок 24 или 48 часов. Часть корешков затем фиксировали в смеси изопропанол + метанол в течение 12 часов. Фиксированные и нефиксированные корешки трижды промывали в 0,1 М КСl, после чего проводили клик-реакцию с азидокумарином (с использованием CuSO_4 и аскорбата натрия) в течение часа при постоянном перемешивании на шейкере (2 об/мин). Полученные образцы вновь отмывали в 0,1 М КСl. Флуоресценцию регистрировали на конфокальной лазерной системе LSM 710 инвертированного микроскопа Axio Observe (Zeiss), длина волны возбуждения 405 нм, испускания – 480–490 нм, разрешение объектива x40/0,5.

Исследования показали присутствие в клетках растений флуоресцирующего компонента с характеристиками, соответствующими алкил-азидному комплексу. Интенсивность этой флуоресценции более, чем в 100 раз превышает автофлуоресценцию клетки, и максимумы этих флуоресценций можно четко разделить. Фиксированные клетки флуоресцируют не хуже, чем живые, но некоторое ухудшение качества изображений фиксированных клеток обнаружено на клетках корневых волосков. Разницы между инкубацией корней в течение суток или двух почти не было, поэтому можно ограничиваться более коротким временем обработки. Испускание света прежде всего шло от цитоплазмы клеток. Межклеточное пространство – апопласт светилось существенно слабее, из чего можно было заключить, что пропаргилглицин не адсорбировался на клеточной стенке и хорошо проникал в протопласт. Наиболее интенсивной флуоресценция была в зоне деления и растяжения клеток корня, а также в зоне корневых волосков, то есть участках наиболее метаболически активных клеток корня. Аналогичные исследования на живом корешке томата с инкубацией в сутки продемонстрировали сходные результаты.

Таким образом, показана принципиальная возможность применения алкил-азидной клик-химии для прижизненной визуализации внутриклеточных компонентов клеток растений. Методика нетоксична, специфична и достаточно проста в исполнении, может быть использована для исследования особенностей белкового обмена клеток растений.

ХАРАКТЕРИСТИКА РИЗОСФЕРНОЙ БАКТЕРИИ *BREVIBACTERIUM IODINUM*

М. Т. Лутфуллин, Г. Ф. Хадиева, Н. К. Мочалова, А. М. Марданова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлёвская, 18;
lutfullin.marat2012@yandex.ru

Бактерии, относящиеся к группе PGPR, привлекают большое внимание исследователей из-за высокого потенциала использования в сельском хозяйстве. Это связано с тенденцией, направленной на уменьшение использования химических удобрений, и необходимостью стабильного земледелия в рамках охраны окружающей среды. Эффект действия PGPR бактерий – это увеличение темпов роста и продуктивности растений. PGPR-бактерии могут непосредственно или косвенно активировать иммунитет растений или регулировать их рост. К прямым способам воздействия микроорганизмов на растения относят ассоциативную азотфиксацию, образование ростостимулирующих веществ фитогормональной природы, обеспечение легкоусвояемыми формами железа за счет синтеза сидерофоров, улучшение фосфорного питания растений посредством гидролиза органических фосфатов, а также стимуляцию толерантности растений к стрессовым условиям.

Целью работы было выделение и характеристика ризосферных бактерий с ростостимулирующей активностью. Бактерии выделяли из ризосферы картофеля. Идентификацию штаммов проводили с помощью MALDI Biotyper (Bruker Daltonik). Для обнаружения и количественного определения индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) использовали реактив Сальковского. Бактерии культивировали на среде LB, содержащей L-триптофан (0,5 мг/мл), при +30°C. Для выявления способности фиксировать атмосферный азот использовали жидкую среду Эшби без содержания азота. Накопление аммиака в субстрате установили с помощью реактива Несслера. Исследование продукции сидерофоров проводили по методу Arnou и Assay на железodefицитной среде M9.

Из ризосферы картофеля была выделена грамположительная бактерия и идентифицирована как *Brevibacterium iodinum*, обладающий способностью к синтезу ИУК. ИУК является фитогормоном ряда ауксинов, регулирующим рост и развитие растений. Известно несколько различных путей биосинтеза ИУК, при этом общепринятым основным метаболическим предшественником является L-триптофан. Исследование динамики синтеза ИУК *B. iodinum* показало, что максимальное количество фитогормона синтезируется на 3 сутки на среде LB с триптофаном и достигает 65 мкг/мл, без триптофана 28 мкг/мл, что свидетельствует о триптофан-зависимом синтезе данного фитогормона. Биологическая фиксация азота имеет большое значение в повышении плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур, а также в экономии минеральных удобрений. В последнее время установлено, что многие почвенные микроорганизмы обладают способностью связывать атмосферный азот. Интенсивный рост *B. iodinum* на безазотистой среде Эшби свидетельствовал о способности фиксировать атмосферный азот. Однако растения могут усваивать только минеральные соединения азота: нитратную и аммиачную формы. При добавлении реактива Несслера в культуральную жидкость *B. iodinum* появилась желтая окраска, что свидетельствует о наличии аммонийной активности. Исследовали динамику накопления сидерофоров в среде культивирования. Показали, что максимальное количество сидерофоров наблюдалось на 24 час культивирования и составляло 124 мкМ.

Таким образом, ризосферная бактерия *B. iodinum*, обладающая способностью к синтезу фитогормона ИУК, к фиксации атмосферного азота и продукции сидерофоров, может быть использована для разработки полифункциональных ростостимулирующих биопрепаратов, являющихся альтернативой химическим удобрениям в сельском хозяйстве.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной К(П)ФУ для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 14-83).

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИЙ ДИКОРАСТУЩИХ ОРХИДНЫХ (НА ПРИМЕРЕ ПАМЯТНИКОВ ПРИРОДЫ НИЖНЕГО НОВГОРОДА)

А. В. Макеев, М. В. Сидоренко

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
eco_smv@mail.ru

Известно, что без тщательного изучения экологии и биологии дикорастущих видов орхидных и организации их эффективной научно-обоснованной охраны сохранить наиболее редкие их виды в ряде густонаселенных областей Средней России затруднительно. Актуальность проведенной работы определяется необходимостью оценки состояния популяций редких видов растений и разработки практических рекомендаций по их охране. Цель работы заключалась в получении данных по эколого-биологическим характеристикам некоторых дикорастущих орхидных, произрастающих на ООПТ Нижнего Новгорода. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи: 1) проанализировать возрастную структуру популяций видов орхидных на ООПТ Нижнего Новгорода; 2) провести сравнительный анализ исследованных популяций орхидных по морфометрическим характеристикам, по возрастным спектрам и численности (плотности); 3) оценить семенную продуктивность популяций орхидных.

Были изучены популяции следующих видов орхидных: башмачок настоящий, пальчатокоренник Фукса, пальчатокоренник Траунштейнера, дремлик широколистный, дремлик болотный. Исследования проводились на территории двух ООПТ: «Малиновая гряда» и «Слуда». Для статистической обработки данных использовалась компьютерная программа «Биостат» и «Медико-биологическая статистика» С. Гланца. Для сравнения выборок использовался критерий Крускала-Уоллиса и критерий Данна.

На основе морфометрических данных были выделены возрастные стадии исследуемых видов растений и проанализирована возрастная структура популяций дикорастущих орхидных. Анализ возрастных спектров показал, что в обследованных популяциях орхидных преобладают взрослые цветущие или вегетирующие экземпляры, составляющие в среднем более 60% общей биомассы. Такое распределение является нормальным для орхидных, т.к. на взрослых (генеративных) стадиях развития растение пребывает в несколько раз дольше по сравнению с другими стадиями. По данным морфометрических исследований в разных биотопах был установлен ряд статистически значимых различий популяций орхидных (например, у башмачка настоящего, пальчатокоренника Фукса) по следующим показателям: высота побега, длина листьев, число цветков. Данные различия объясняются условиями местопроизрастания орхидных, в т.ч. отличиями в световом режиме, почвенно-гидрологическими характеристиками и структурой растительности. Были выявлены межгодовые отличия по некоторым морфометрическим показателям. Причиной межгодовых различий могут являться погодные условия, а также воздействия антропогенного характера. Важную роль играет изменение освещенности местообитаний, например, при росте подлеска и подроста. При подсчете семенной продуктивности дикорастущих видов орхидных установлено, что число семян в разных плодах у различных экземпляров одного и того же вида сильно варьирует. Семенная продуктивность орхидных в условиях ООПТ Нижнего Новгорода относительно высокая и колеблется у разных видов от 2070 до 6415 семян в одном плоде.

Полученные данные по состоянию популяций дикорастущих орхидных могут быть использованы для организации мониторинговых работ и составления рекомендаций по охране редких видов.

**ОСОБЕННОСТИ ОТБОРА СОДЕРЖАНИЯ К МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОМУ КУРСУ
«БИОЛОГИЯ И КУЛЬТУРА» ДЛЯ МАГИСТРАНТОВ НАПРАВЛЕНИЯ
ПОДГОТОВКИ «БИОЛОГИЯ»**

А. А. Мальцева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *uippy@yandex.ru*

Современный этап развития науки в сфере биологических дисциплин характеризуется мощным подъемом, связанным с большим количеством открытий, появлением новых разработок и технологий, освоением новых практик. В целом повышается значение комплекса биологических наук в системе научного знания, современный уровень и темпы развития биологических исследований сформировали множество вопросов, требующих философского и культурологического осмысления.

В соответствии с ФГОС ВПО нового поколения в образовательный процесс включена новая форма оценки качества знаний с использованием компетентного подхода. Выпускник магистратуры по направлению «Биология» должен «демонстрировать понимание наличия вопросов, связанных со знанием в области биологии и на стыке разных областей», а также «формировать диагностические решения проблем, основанные на исследованиях, путем интеграции знаний из новых областей или междисциплинарных областей и выносить суждения на основе неполной или ограниченной информации».

Это возможно при формировании следующих компетенций (уровень магистра наук направления «Биология»): готовность действовать в нестандартных ситуациях, нести социальную и этическую ответственность за принятые решения (ОК-2); готовность использовать фундаментальные биологические представления в сфере профессиональной деятельности для постановки и решения новых задач (ОПК-3); способность использовать философские концепции естествознания для формирования научного мировоззрения (ОПК-8).

В Институте биологии и биомедицины ННГУ им. Н.И. Лобачевского в настоящее время с учетом указанных выше особенностей разрабатывается учебный курс для магистров «Биология и культура». Курс сформирован из нескольких разделов, в основе которых лежит понятие, вызревшее в биологии, но на настоящий момент широко используемое в других областях науки и в культуре.

К таким понятиям относится, например, термин «эволюция», проходящий по всем иерархическим уровням организации мира. К общенаучным в настоящее время относятся и понятия «система», «симметрия», «гомеостаз», «развитие», «устойчивость» и некоторые другие, которые будут освещены в создаваемом нами курсе.

Разрешение актуальной проблемы – необходимости разработки междисциплинарных курсов для высшего биологического образования – позволит сформировать ряд общекультурных и общепрофессиональных компетенций, предусмотренных ФГОС ВПО нового поколения по направлению подготовки «Биология».

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРООКСИДАНТОВ И АНТИОКСИДАНТОВ НА СОСТОЯНИЕ ИСКУССТВЕННЫХ И ПРИРОДНЫХ МЕМБРАН

Н. В. Мамаева¹, О. В. Попова¹, Н. И. Иванушкина²

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
yasminka1@mail.ru

²ОАО «Марбиофарм», 424000, Йошкар-Ола, ул. Карла Маркса, 121

Одной из главных причин повреждения мембран клеток при патологических процессах в организме является активация в них реакций перекисного окисления при усилении образования свободных радикалов и снижения активности антиоксидантов. При этом может изменяться структура мембраны и ее свойства. В эритроцитах изменение свойств мембраны вследствие перекисного повреждения приводит к ухудшению их физиологических характеристик, в частности, реологических показателей. Одним из способов торможения процессов перекисной окисления липидов в мембранах клеток может быть повышение их окислительной устойчивости с сохранением функциональной активности за счет использования антиоксидантов.

В качестве природных мембран для исследования были выбраны мембраны эритроцитов. Они представляют собой удобную модель для изучения мембранопатологических процессов. Первым звеном, реагирующим на усиление процессов свободнорадикального окисления в организме, выступают именно эритроциты. Они же первыми и исчерпывают свои компенсаторные возможности.

Изучение различных аспектов окислительного стресса, протекающего с вовлечением природных мембран, моделирование и анализ влияния веществ с прооксидантным и антиоксидантным механизмом действия, а также оценка с использованием искусственных мембран является одним из актуальных направлений современных исследований.

Целью работы явилось исследование влияния некоторых агентов с прооксидантным и антиоксидантным действием на состояние искусственных и природных мембран. Было изучено влияние *трет*-бутилгидропероксида (tBOOH), L-цистеина и тиомочевины на осмотическую стойкость, сорбционную способность и деформируемость эритроцитов, а также проведена оценка действия гидроперекиси и тиомочевины на оптические характеристики суспензии липосом.

tBOOH в обеих концентрациях (200 и 400 мкМ) проявляет прооксидантные свойства, что выражается в увеличении процента гемолиза эритроцитов. L-цистеин и тиомочевина, наоборот, препятствуют гемолизу, что позволяет говорить об их антиоксидантном действии. При совместном добавлении tBOOH и L-цистеина, а также tBOOH и тиомочевины, было выявлено, что тиомочевина проявляет более выраженные антиоксидантные свойства, способность предотвращать действие окислителя tBOOH и повышать осмотическую стойкость эритроцитов. Инкубация эритроцитов с tBOOH в обеих концентрациях приводит к снижению их сорбционной способности, что может быть связано с перекисным окислением мембранных липидов под влиянием данного агента. L-цистеин и тиомочевина только в концентрации 400 мкМ влияют на сорбционную способность, повышая ее. Совместное добавление этих агентов с tBOOH в небольшой степени, но значительно подавляет окислительное действие гидроперекиси, предотвращая окисление липидов. Деформируемость эритроцитов изменяется под влиянием исследуемых веществ. Совместное добавление антиоксидантов и гидроперекиси снижает индекс деформируемости практически до значений контроля. Тиомочевина повышает стабильность липосомной модели, подавляя действие tBOOH и проявляя тем самым свое антиоксидантное действие на искусственных мембранах.

**ПОЛУЧЕНИЕ КОСМИДНОЙ КОНСТРУКЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ
ПОЛНОРАЗМЕРНЫЙ ГЕНОМ АДЕНОВИРУСНОГО ВЕКТОРА, НЕСУЩЕГО ГЕН
МИНИ-АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА**

А. Д. Меженин¹, М. Ю. Волков¹, Т. В. Каутиго^{1, 2}, Б. В. Белугин²

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА
им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23;
andrey.mezhenin@yandex.ru

Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Бешенство – особо опасная болезнь, характеризующаяся тяжелым поражением ЦНС и летальным исходом. Особая опасность бешенства состоит в том, что в настоящее время не существует эффективного средства лечения этого заболевания. В качестве защиты после контактов с больными животными применяется срочная вакцинация и антирабический иммуноглобулин. Однако, существующие препараты, содержащие антирабический иммуноглобулин (гетерологичный и гомологичный), имеют ряд недостатков. В связи с этим необходима разработка современного биотехнологического препарата, отвечающего нормам безопасности и эффективности. В последние годы активно изучается возможность применения рекомбинантных мини-антител для разработки средств лечения и профилактики инфекционных заболеваний. Мини-антителами называют однодоменные антиген-узнающие переменные фрагменты антител.

Использование препаратов белков мини-антител требует курсового введения, что может быть ограничением для широкого практического применения. Одним из способов поддержания терапевтических концентраций мини-антител в крови является использование генетических конструкций, которые экспрессируют мини-антитела в клетках человека. В связи с этим, в последнее время активно изучается возможность применения вирусных векторов для доставки терапевтических генов и генов мини-антител в клетки человека. Аденовирусный вектор является хорошо изученной и безопасной системой, позволяющей доставлять и эффективно экспрессировать трансгены в течении 2-3 недель, после чего вектор выводится из организма.

Для получения конструкции с геномом аденовируса и терапевтическими генами применялись космидные технологии, так как для работы необходим только один штамм бактерий, эффективность клонирования по космидам составляет 90–100%, и можно клонировать две независимые друг от друга кассеты с генами.

Проведен дизайн гена V3-Rab. Ген мини-антитела против гликопротеида вируса бешенства G3 был синтезирован в фирме Evrogen (Россия). Для клонирования и наращивания плазмид и космид использовали штамм *Escherichia coli* DH5α. Упаковочную реакцию космиды в бактериофаг проводили с помощью набора реактивов GigaPack III Gold Packaging Extract (Agilent-technologies, США). Трансфекцию клеток 293HEK проводили кальций-фосфатным методом. Была получена космидная конструкция cAd5-V3-Rab, несущая полноразмерный геном аденовируса и ген мини-антитела против гликопротеина вируса бешенства. Получен аденовирус несущий ген мини-антитела против гликопротеида вируса бешенства.

Методом *in vitro* проведено определение вируснейтрализующей активности антирабических мини-антител, экспрессируемых рекомбинантными псевдоаденовирусными частицами при заражении ими клеток линии HEK293. Результаты свидетельствуют о высоком уровне экспрессии вируснейтрализующих антирабических мини-антител рекомбинантными псевдоаденовирусными частицами.

МЕТОДИКА МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ АДАПТАЦИЕЙ К ГРУНТУ РАЗНЫХ СОРТОВ ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ

Н. Е. Мельникова, Е. В. Березина, М. Н. Агеева, А. А. Брилкина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nataly-melnichka21@yandex.ru

Голубика – одна из ведущих в мире ягодных культур. Химические вещества, содержащиеся в плодах, защищают человеческий организм от старения и способствуют повышению жизненной активности. Поэтому неудивительно, что в последнее время микроклональное размножение данного вида становится наиболее актуальным. Целью работы явилось изучение методики микроклонального размножения разных сортов голубики щитковой с дальнейшей адаптацией в грунте.

Исследования проводились на разных сортах голубики щитковая (*Vaccinium corimbossum*): Патриот, Джерси, Бонус, Блюкроп (любезно предоставленные ЗАО ПО «Гамми») и формы 53 (культivar разведения Мишуковой И. В., Ботанический сад ННГУ).

Микроклональное размножение осуществляли на питательных средах WPM и Андерсона, *pH* среды доводили до 5. Растения выращивали в банках на 150 мл с 35 мл питательной среды по 12 эксплантов. В качестве эксплантов использовали междоузлия голубики с двумя листьями. Культивирование микрорастений проводили в условиях 16-часового фотопериода при освещении 4 Лк и температуре +24°C. Для большинства сортов голубики длина пассажа составляла 75 дней, для сорта Блюкроп – 100 дней.

По окончании пассажа растения высаживали в грунт и адаптировали к новым условиям. Для адаптации использовали верховой торф (Veltorf, *pH*=3,5-5,0), стерилизованный автоклавированием (1 час, 1,1 атмосферы). Для полива использовали водопроводную воду, подкисленную разбавленной серной кислотой до *pH*=4. На первом этапе адаптации микрорастения высаживали в пластиковые контейнеры с плотно закрытыми крышками в 300 мл почвы по 7 микрорастений. Через 2 недели после высадки крышки с контейнеров снимали. За все время высаживания растения обильно поливали, почва проверялась на наличие нежелательной микрофлоры. Через 80 дней адаптированные растения пересаживали по 4 в большие горшки (1100 мл почвы) в такой же грунт.

В ходе микроклонального размножения голубики щитковой разных сортов было выявлено, что все растения, за исключением сорта Блюкроп хорошо размножаются на питательной среде WPM. Коэффициент размножения составил для сорта Патриот – 3,9, для сорта Бонус – 3,5, для сорта Джерси – 3,1, у формы 53 – 3,6, для сорта Блюкроп – 3,9. В последнем случае такого коэффициента размножения микрорастения достигали только на питательной среде Андерсона с добавлением 0,5 мг/л изопентиладенина.

На первом этапе адаптации микрорастения высаживались в грунт с корнями (спонтанный ризогенез на безгормональных средах) и без. Растения сорта Бонус с корнями через 80 дней адаптации характеризовались средней длиной побегов 13,8 см, корней – 5,6 см, а среднее количество листьев составило 23 на растение; растения этого же сорта, но высаженные из питательной среды без корней уступали в длине побегов и корней и количестве листьев (11,1 см и 3,6 см и 17 соответственно). Адаптированные растения сорта Джерси «с корнями» достигли таких же высоких показателей длины побегов – 14,4 см, корней – 5,6 см и большим количеством листьев – 17: в варианте «без корней» длина стеблей составила 6,2 см, корней – 4,6 см; и 9 листьев. В случае сорта Патриот «с корнями» как и у других сортов с ризогенезом показатели были выше: длина стеблей – 10,6 см, корней – 4 см, количество листьев – 17. Средняя длина побегов сорта Патриот «без корней» составила 8,4 см, корней 4,4 см, количество листьев – 13.

В ходе работы так же было выявлено, что большинство исследованных сортов хорошо размножаются на питательной среде WPM и легко адаптируются к почвенным условиям.

РЖАВЧИННЫЕ ГРИБЫ – ПАЗАРИТЫ ДЕРЕВЬЕВ И КУСТАРИКОВ ОКРЕСТНОСТЕЙ РУБСКОГО ОЗЕРА

Л. Ю. Минеева, Н. Г. Тихомирова

Ивановский государственный университет, 153000, Иваново, ул. Ермака, 39;
lmin1@mail.ru, natalya_tihomirova09.01@mail.ru

Ржавчинные грибы, являясь облигатными паразитами, играют большую роль в снижении жизнеспособности, декоративных свойств культурных и дикорастущих растений, вызывая у них заболевание – ржавчину. Внешнее проявление ржавчины на растении может быть различным и зависит от стадии ее развития. В большинстве случаев, это ржавые, желтовато-бурые, порошащие пустулы – скопления спор, выходящие на поверхность пораженной ткани через разрывы эпидермиса. В других случаях, главным образом, на кустарниковых и древесных породах, это бокаловидные или сосковидные выросты на листьях и побегах растений-хозяев.

Принимая во внимание научный и практический интерес к ржавчинным грибам, а также то, что Рубское озеро и его окрестности входят в состав ООПТ регионального значения, изучение данной группы патогенов является актуальным направлением исследований. Целью нашей работы было изучение ржавчинных грибов – паразитов деревьев и кустарников окрестностей Рубского озера.

Исследование проходило в течение двух полевых сезонов (июнь-сентябрь 2013-2015 гг.) в окрестностях Рубского озера в Тейковском районе Ивановской области. Озеро имеет координаты: 56°43'33" с. ш. и 40°36'51" в. д. Пораженный флористический материал обнаружен во всех экосистемах района исследования (сосновые, еловые, березовые, смешанные и другие леса, сфагновое болото, населенный пункт, территории спортивно-оздоровительных лагерей ИвГУ, ИГЭУ и ИГТА, примыкающих к Рубскому озеру).

Сбор материала осуществлялся маршрутным методом. Симптомы заболевания выявлялись визуальным осмотром растения. Для определения видов патогенов применялись методы световой микроскопии и макросъемки с использованием цифрового микроскопа, совмещенного с мультимедийным компьютером, и программного обеспечения Motic Images Plus Ver. 2.0 ML.

В ходе работы было собрано и определено 13 видов ржавчинных грибов из восьми родов (*Ochropsora*, *Gymnosporangium*, *Puccinia*, *Phragmidium*, *Melampsora*, *Melamporidium*, *Chrysomyxa*, *Thekopsora*), принадлежащих к двум семействам – Melampsoraceae и Pucciniaceae класса Teliobasidiomycetes. По числу видов доминирует семейство Melampsoraceae (8 видов) и род *Melampsora* (5 видов).

Ржавчинные грибы имеют узкую филогенетическую специализацию. Для многих из них характерно наличие в пределах одного и того же вида нескольких специализированных форм, приуроченных к одному или нескольким (немногим) видам растений.

Выявленные виды ржавчинников зарегистрированы на 13 видах высших растений. Систематический анализ питающих растений показал, что к наиболее поражаемым видам относятся представители семейств Rosaceae и Salicaceae. Проведенный анализ жизненных форм установил, что симптомы заболевания больше проявляются на древесных породах (54%) и несколько меньше на кустарниковых (46%). Пораженными вегетативными органами являются листья, хвоя, побеги. Генеративные органы с признаками ржавчины не найдены. Анализируя распределение видов по хозяйственной ценности, мы выяснили, что среди зараженных хозяев представлены группы съедобных, декоративных, лекарственных растений.

Необходим дальнейший мониторинг грибов порядка Uredinales, т. к. от знания экологии, биологии, видового состава ржавчинников будет зависеть состояние растений на территории ООПТ и прилегающих территориях.

ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ И КЛЕТОЧНОМ ЛИЗАТЕ КЛИНИЧЕСКОГО ИЗОЛЯТА *MORGANELLA MORGANII*

Л. Ф. Миннуллина, М. Х. Эль Эллак, А. М. Марданова

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

Условно-патогенная бактерия *Morganella morganii* является возбудителем инфекций мочевыводящих путей. В литературе имеются данные о том, что около 50% клинических изолятов этой бактерии обладают гемолитической активностью. Известно, что способные к синтезу гемолизинов штаммы микроорганизмов обладают более выраженной вирулентностью, а вызванные ими инфекции труднее поддаются лечению. Целью данной работы стало изучение гемолитических свойств клинического изолята *M. morganii* 190, выделенного из мочи амбулаторного пациента.

Нами проведен биоинформационный поиск генов гемолизинов в секвенированных геномах *M. morganii* и сконструированы праймеры для выявления гомологичных последовательностей в геномах клинических изолятов. Электрофоретический анализ полученных ПЦР-продуктов показал, что в геноме *M. morganii* 190 присутствует участок, гомологичный гену альфа-гемолизина *Escherichia coli* CFT073.

Исследовали гемолитическую активность в культуральной жидкости *M. morganii* 190 с использованием 2% суспензии эритроцитов человека. Было показано, что наибольшей гемолитической активностью обладает бактериальная культура на экспоненциальной фазе роста. В частности, 12-часовая культура разрушала эритроциты в 1,5 раза эффективнее, чем 24-часовая. Помимо этого, гемолитическая активность была обнаружена также в концентрированном лизате бактериальных клеток.

Определяли динамику накопления гемолитической активности в культуральной жидкости и клеточном лизате *M. morganii* 190 в экспоненциальной фазе роста (1–10 ч). Показано, что гемолитическая активность в культуральной жидкости достигала максимальных значений к 3 часу роста и сохранялась на этом уровне до 7 часа, после чего резко снижалась. В клеточном лизате гемолитическая активность была примерно в 8 раз ниже таковой для культуральной жидкости, и достигала максимальных значений к 4–5 часу роста.

Известно, что активность альфа-гемолизина *E. coli* зависит от присутствия ионов кальция. В связи с этим исследовали влияние 10 мМ CaCl₂ на гемолитическую активность культуральной жидкости и клеточного лизата *M. morganii* 190. Существенного влияния ионов кальция на гемолитическую активность культуральной жидкости выявлено не было, тем не менее, было показано, что Ca²⁺ приводят к повышению внутриклеточной гемолитической активности на 15–20% относительно контроля.

Таким образом, в геноме клинического изолята *M. morganii* 190 обнаружен участок, гомологичный гену альфа-гемолизина *E. coli*. Показано, что гемолитическая активность появляется в среде уже на 2 час культивирования и достигает максимальных значений в середине экспоненциальной фазы роста. Обнаружена гемолитическая активность, ассоциированная с клетками, которая активируется в присутствии ионов кальция.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА CD38 ГЕНА В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

А. Мокран, А. Д. Перенков, Д. В. Новиков

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mokraneahlem@yandex.ru

Согласно последним глобальным данным по эпидемиологическому анализу, колоректальный рак остается одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний в мире. Белок CD38 человека представляет собой трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой 45 кДа, принимающий участие в адгезии клеток и обладающий NAD⁺ гликогидролазной активностью. Ген, кодирующий CD38, расположен на 4 хромосоме. Показано, что одионуклеотидный полиморфизм (ОНП) rs6449182 связан с риском развития хронического лейкоза и системной красной волчанки. В настоящем исследовании мы проанализировали ассоциацию между аллельными вариантами одонуклеотидного полиморфизма (ОНП) rs6449182 гена CD38, который может влиять на экспрессию гена, и риском развития рака толстой кишки, а также на частоту потери гетерозиготы в клетках опухолей толстой кишки.

Исследовали 28 образцов периферической крови больных раком толстой кишки, и 28 образцов опухолевых узлов больных раком толстой кишки, полученные из Нижегородской государственной медицинской академии от проф. Алясовой. ДНК выделяли путем экстракции фенол-хлороформом. Анализ гена CD38 проводили методом аллель-специфической ПЦР. Генотипы rs6449182 регистрировали электрофорезом в 1,5% агарозном геле. Соответствие с равновесием Харди-Вайнберга в каждом конкретном случае анализировали с помощью теста χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Больные раком толстой кишки, проживающие в Нижегородской области, имели следующее распределение аллельных вариантов ОНП rs6449182: CC – 0,321, CG – 0,500, и GG – 0,179. Исследование частоты аллельных вариантов ОНП rs6449182 в образцах опухолевых узлов больных раком толстой кишки, показало следующее распределение: CC – 0,321, CG – 0,571, GG – 0,107. Сравнение генотипов периферической крови и опухолевых клеток показало у трех из тестированных больных (10%) потерю гетерозиготы в образцах опухоли, при которой аллель G заменяется на аллель C. Ранее мы обнаружили, что уровень экспрессии гена CD38 в клетках периферической крови и содержание растворимого CD38 в сыворотке крови повышен у носителей аллеля G ОНП rs6449182, однако у части больных в опухолевых узлах наблюдается потеря аллеля G с образованием гомозиготы CC. Принимая во внимание возможность влияния генотипа CC ОНП rs6449182 на снижение уровня экспрессии CD38, можно предположить, что генотип важен для реализации функций CD38 в раковой клетке. Интересно отметить, что известна корреляция между CC генотипом ОНП rs6449182 CD38 и генетической предрасположенностью к системной красной волчанке, которая связана с нарушением работы иммунной системы.

В опухолевых очагах 10% больных раком толстой кишки регистрируется потеря гетерозиготы гена CD38, по-видимому, связанная со снижением уровня экспрессии гена. Биологическое значение обнаруженных изменений остается неизвестным. Полученные данные позволяют предположить, что аллельные варианты ОНП rs6449182 влияют на экспрессию гена, кодирующего молекулу CD38 в опухолевых клетках больных раком толстой кишки, и могут определять предрасположенность к раку толстой кишки.

**НАХОДКИ РЕДКИХ И НОВЫХ ВИДОВ РОДА *ALCHEMILLA* L. (ROSACEAE)
ДЛЯ ФЛОРЫ КАРЕЛИИ**

К. Д. Молодкина, А. В. Чкалов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
happy-lovekka@yandex.ru

Род *Alchemilla* L. является одним из крупнейших родов мировой флоры и одним из наиболее сложных в изучении. На данный момент видовой состав манжеток, во многих регионах России изучен довольно слабо. Изучение региональных флор является важной задачей для сохранения биоразнообразия. Особое внимание следует уделять сложным таксономическим группам, таким как апомиктические виды манжеток, в связи с тем, что они отражают наиболее современные тенденции развития естественного флорогенеза и антропогенной трансформации флоры. Изучение манжеток во флоре республики Карелия и, в частности, Петрозаводска представляется интересным в связи с тем, что до настоящего времени в ревизиях рода не уделялось достаточного внимания этой территории.

Целью данной работы является выявление видовой состава манжеток во флоре Петрозаводска и его анализ. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: обследование территории согласно спланированным маршрутам, сбор материала; обобщение полученных полевых данных и материалов гербария, составление конспекта видов манжеток во флоре Петрозаводска; сравнительный анализ видовой состава.

Исследование проводилось в июне 2014 г. маршрутным методом в 9 пунктах Петрозаводска. В результате проделанной работы было выявлено 25 видов манжеток, из них 7 видов – новые для флоры Карелии (*A. glyphodonta* Juz., *A. mininzonii* Czkalov, *A. schistophylla* Juz., *A. stellaris* Juz., *A. substrigosa* Juz., *A. tichomirovii* Czkalov и *A. vorotnikovii* Czkalov) и 10 – новые для флоры Петрозаводска (помимо перечисленных *A. glabricaulis* H. Lindb., *A. leiophylla* Juz. и *A. murbeckiana* Buser). Наиболее интересными оказались находки следующих видов: *A. glyphodonta*, *A. leiophylla*, *A. litwinowii* Juz., *A. mininzonii*, *A. stellaris*, *A. substrigosa*, *A. tichomirovii*, *A. vorotnikovii*, которые до сих пор отмечались только во флоре Поволжья.

ВЛИЯНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА «ХИТОЗАН – ПЧЕЛИНЫЙ ЯД – НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА» НА ПОКАЗАТЕЛИ КРАСНОЙ КРОВИ И КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ЖИВОТНЫХ С ПЕРЕВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ ШТАММА РС-1

Т. В. Мотыгина, М. В. Подковырина, А. А. Бакулина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *kfg@bio.unn.ru*

В современной медицине чрезвычайно важным является поиск терапевтических средств нового поколения с полифункциональными свойствами, которые при малой выраженности токсичности проявляли противоопухолевый эффект. Система крови и кроветворения является интегративной системой, наиболее полно отражающей состояние и характер метаболизма целого организма. В связи с этим в работе показатели системы крови были выбраны в качестве критериев оценки противоопухолевых эффектов пчелиного яда в составе наноструктурированного препарата «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота».

Работа выполнена на белых нелинейных крысах самках массой 150–200 г. Перевивка опухоли штамма РС-1 (альвеолярный рак печени) осуществлялась подкожно в паховую область. Животные были разделены на 4 группы: интактные (относительная норма); контроль 1 (животные-опухоленосители без лечения); контроль 2 (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – наночастицы золота»); опытная группа (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд»). Терапию начинали спустя 3 недели после перевивки опухоли. Препараты вводили по периферии новообразования путем пятикратного обкалывания с периодичностью 1 раз за двое суток. Забор крови производился из подъязычной вены на 1, 14 и 28-е сутки после окончания курсового введения препарата. Количество эритроцитов и концентрацию гемоглобина в крови определяли при помощи гематологического анализатора Abacus Junior 30. Подсчет клеток в разведенном пунктате костного мозга из бедренной кости проводили по методу П. Д. Горизонтова. Также на 28-е сутки после окончания введения препаратов дополнительно было проведено определение объемов опухолей животных контрольной и опытных групп.

На 14-е сутки после окончания введения препаратов зафиксировано снижение концентрации гемоглобина по сравнению с интактными животными ($160,0 \pm 4,46$) у двух групп животных, получавших препараты «хитозан – наночастицы золота» ($147,2 \pm 4,44^*$) и «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота» ($147,2 \pm 4,32^*$) соответственно.

На 28-е сутки после окончания введения препаратов наблюдалось снижение концентрации гемоглобина относительно интактных животных ($159,2 \pm 2,40$) у трех групп животных: контроля ($150,2 \pm 1,57^*$), животных, получавших препараты «хитозан – наночастицы золота» ($145,0 \pm 4,16^*$) и «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота» ($149,6 \pm 3,35^*$) соответственно. Количество клеток красного костного мозга в бедренной кости у контрольных животных на 28-е сутки после окончания введения препарата «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд» было в 2,5 раза ниже, чем у интактных животных. У опытной группы животных количество клеток красного костного мозга было статистически выше, чем у контрольной, хотя и не достигало уровня интактных животных.

У опытных животных, получавших комплексный препарат «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд» объем опухоли был в 5,5 раз меньше, чем в контроле. У животных, получавших препараты «хитозан – наночастицы золота» объем опухоли был в 4,5 раза меньше, чем у контрольных животных.

Таким образом, препараты «хитозан – наночастицы золота» и «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд» обладают противоопухолевым эффектом.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБОВ
ALTERNARIA ALTERNATA, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЯБЛОК СОРТА ГОЛДЕН ДЕЛИШЕС
В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

Х. А. Мохамед¹, А. М. Петерсон¹, В. Е. Ибрагим²

¹Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83; *Hassan_awad37@mail.ru*

²Институт фармацевтической биологии и биотехнологии, Генрих Гейне Университет,
Дюссельдорф, Германия

В заплесневелых сердцевинах яблок обнаруживаются несколько различных грибов *Alternaria* spp., которые в основном представлены одним видом *A. alternata*. *Alternaria* spp. являются одними из самых широко распространённых микроскопических грибов, и могут развиваться на различных пищевых продуктах, где они способны выделять несколько типов биологически активных метаболитов или микотоксинов – веществ, вредных как для человека, так и для животных. В данной работе мы выделили 51 штамм *Alternaria* spp, обнаруженных на 25 побегах яблонь сорта Голден Делишес. Эти штаммы морфологически характеризуются окрашиванием при использовании красителя хлопчатобумажного синего. Молекулярно-генетический анализ на основе последовательностей рНК (Alt-прямой – ATGCAGTTCACCACCATCGC, Alt-обратный-ACGAGGGTGAYGTAGGCGTC) показал 100% идентичность выделенных штаммов с *Alternaria alternata* (A104). Мицелий гриба помещали в конические колбы Эрленмейера объемом 1 л, содержащие по 100 г риса для твердофазного культивирования. Культуры инкубировали при комнатной температуре без встряхивания в течение 21 дня. Выделение вторичных метаболитов производили методом фильтрации с последующим повторным экстрагированием EtOAc и MeOH. Далее проводили ВЭЖХ анализ грибного экстракта.

Полученные после фракционирования на сефадексе ВЭЖХ-хроматографии пики сопоставляли с пиками эталонных соединений, имеющимися в базе данных в УФ- и видимой областях спектра. Сопоставление пиков и времени позволило идентифицировать соединения: 1 – альтернариол, 2 – альтенузин, 3 – таларофлавоин, 4 – 2,5-диметил-7-гидрокси-хромоин, 5 – альтернариевая кислота.

Биологическая активность неочищенного экстракта и выделенных соединений были подвергнуты биоанализу на определение цитотоксичности и профилей противомикробной активности. Пробы 0,5 мг экстракта в 50 мкл ДМСО (диметилсульфоксид), в которых присутствуют альтернариол и альтенузин, показали высокую активность в отношении клеточной линии L5178Y лимфомы. Пробы с таларофлавоном, 2,5-диметил-7-гидрокси-хромоном и альтернариевой кислотой показали очень слабую цитотоксическую активность. Все эти соединения, а также неочищенный экстракт не активны в отношении *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) и *Mycobacterium tuberculosis*.

АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА ПРИ ДЕЙСТВИИ ПОВРЕЖДАЮЩИХ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

М. А. Мудрилов, В. А. Воденев, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mtengri@yandex.ru

В ответ на локальное внешнее воздействие у высших растений происходит генерация двух типов электрических сигналов – потенциала действия (ПД) и переменного потенциала (ВП), способных вызывать различные функциональные ответы. Такие параметры ВП, как вероятность возникновения и скорость распространения проявляют зависимость от типа раздражителя. Наличие подобной зависимости позволяет предположить специфичность индуцированных сигналами функциональных ответов. Однако, механизмы, лежащие в основе изменчивости параметров реакций, индуцированных различными раздражителями, не выяснены.

Объектом исследования служили 2–3-х недельные проростки гороха (*Pisum sativum*). Генерацию ВП индуцировали путем локального повреждения листа, используя ожог открытым пламенем, постепенный нагрев и раздавливание участка листа. Электрическую активность регистрировали внеклеточно на различном расстоянии от зоны повреждения.

Были показаны различия в скорости распространения ВП и зависимости скорости от расстояния от зоны повреждения при действии ожога, постепенного нагрева и механического повреждения. Разработана математическая модель распространения ВП, которая основывается на предположении о турбулентной диффузии соединения, индуцирующего ВП. Было показано, что модель корректно описывает динамику скорости распространения ВП при действии раздражителей различных типов. Вариации в параметрах реакций объясняются различными значениями коэффициента диффузии, вызванные турбулентными потоками в сосудах, количеством раневой субстанции в зоне повреждения, а также интенсивностью масс-переноса. Соответствие экспериментальных результатов и теоретического описания подтверждает верность положений предложенной математической модели.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТКАНЕЙ МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ ТРИПСИНИРОВАННЫХ КЛЕТОК РАКА МАТКИ ЧЕЛОВЕКА

М. А. Наумова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
marina_naumova94@mail.ru

Одним из основных методов терапии злокачественных новообразований, по-прежнему, является химиотерапия с использованием противоопухолевых препаратов. Однако, применение этих средств, наряду с положительными эффектами, приводит к значительным негативным последствиям. Высокая токсичность лекарственных средств диктует необходимость регулирования схемы и продолжительности лечения. В связи с этим необходимо создавать модели с различными опухолями человека для тестирования противоопухолевых препаратов и для предсказания поведения опухолей в организме.

Цель работы: детектировать опухолевые клетки в органах мышей линии BALB/c после имплантации трипсинированных клеток рака матки человека.

В опытах *in vivo* использовали самок мышей линии BALB/c SPF категории (поставщик НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН, Пущино). Трипсинированные клетки рака матки человека имплантировали на дорсальную сторону под мышечный слой опытной группе мышей, контрольная оставалась интактной. Через 4 недели обе группы мышей эвтаназировали, экстрапарировали мозг, печень, почки, сердце для гистологического анализа. Приготовленные криосрезы толщиной 4-6 мкм окрашивали и исследовали при помощи световой микроскопии.

В ходе патоморфологического анализа не было выявлено внешних патологий в морфологии сердца и печени. В опытных образцах мозга наблюдалась повышенная гиперемия и полнокровие сосудов. На гистологических срезах тканей мозга мышей линии BALB/c после имплантации трипсинированных клеток рака матки человека не было выявлено патологий. Анализ криосрезов сердца наблюдается инфильтрация нейтрофилов, что может свидетельствовать о начале воспалительного процесса, что в свою очередь может быть следствием некроза, вызванного резким сужением сосудов. В образцах почек мышей наблюдается некроз зоны нефронов. Анализ криосрезов печени показал наличие включений амилоидной природы. В органах контрольных образцов патологий не выявлено.

На основании анализа гистологических срезов печени и сердца мышей после имплантации трипсинированных клеток рака матки человека можно сделать предварительный вывод о том, что ремиссия опухолей размером 10×7 мм протекают по капсулированному механизму, о чем свидетельствуют включения в печени мышей, окруженные оболочками из клеток и содержащие некротический клеточный материал. Чтобы доказать выдвинутое предположение мы провели иммуногистохимическое исследование при помощи опухолевых маркеров в выявленных включениях. Иммуногистохимия к белку S100 криосрезов печени мышей линии BALB/c после имплантации трипсинированных клеток рака матки человека выявила опухолевые клетки в виде окруженных мембраной включений и клеток, окружающих кровеносные капилляры. Иммуногистохимия печени контрольных мышей линии BALB/c не выявила клеток карциномного типа.

Таким образом, можно сделать вывод, что имплантация опухолевых клеток саркомного типа в течение 4 недель не приводила к пролиферации самой опухоли в сайте имплантации. Можно предположить, что выжившие клетки опухоли человека мигрировали с током крови в печень и сконцентрировались вокруг кровеносных сосудов, а также привели к нарушениям в работе сердца мышей.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛИЗОФОСФАТИДИЛХОЛИНА В ТКАНЯХ КРЫС С ПЕРЕВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ ШТАММА РС-1 ПРИ ТЕРАПИИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМ ПРЕПАРАТОМ «ХИТОЗАН – ПЧЕЛИНЫЙ ЯД – НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА»

О. С. Наумова, К. А. Кузьмичева, Л. К. Лисаченко, Т. А. Веселова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Olga95_2010@mail.ru

Цель представленной работы – исследование содержания лизофосфатидилхолина (ЛФХ) в различных тканях крыс с альвеолярным раком печени РС-1 до и после лечения, а также выяснение возможных механизмов липидных перестроек.

Объектами исследования служила кровь, печень и опухоль крыс 4-х экспериментальных групп: интактные, контроль 1 (животные-опухоленосители без лечения), контроль 2 (животные-опухоленосители, которым вводили наноструктурированный препарат «хитозан – наночастицы золота»), подопытная группа (животные-опухоленосители, которым вводили наноструктурированный препарат «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота»). Забор крови производился из подъязычной вены в первые сутки (3-я неделя роста опухоли), 14-е сутки (5 недель роста опухоли) и 28-е сутки (7 недель после перевивки опухоли) после окончания курсового введения препарата. На 28-е сутки после лечения у декапитированных животных забирали для исследований образцы ткани печени и опухоли. Полученный биологический материал использовали для определения фракций липидов методом тонкослойной хроматографии и активности свободнорадикального окисления методом индуцированной биофлуоресценции.

Системное воздействие опухоли на организм приводило к накоплению ЛФХ в эритроцитах и клетках печени экспериментальных животных. Наиболее выраженные изменения в содержании этого липида в тканях, не затронутых процессом неоплазии, наблюдали на поздних стадиях онкогенеза. Уровень свободных радикалов в эритроцитах и клетках печени на ранних сроках развития опухоли не отличался от такового у интактных животных. На поздних стадиях роста и развития опухоли в эритроцитах и клетках печени крыс происходило смещение баланса свободнорадикального окисления в сторону ингибирования антиоксидантной активности. Вероятно, активация свободнорадикального окисления в эритроцитах и печени крыс-опухоленосителей на поздних стадиях онкогенеза приводила к повышению активности фосфолипазы А₂ и накоплению в клетках лизофосфолипидов.

После курсового введения препарата с пчелиным ядом в эритроцитах крыс-опухоленосителей уровень ЛФХ оставался высоким как на начальных сроках развития опухоли (1-е и 14-е сутки после введения препарата), так и на поздних стадиях онкогенеза (через 28 суток после введения препарата). Накопление лизофосфолипида на всех стадиях роста опухоли сопровождалось снижением содержания фосфатидилхолина. Однако в печени крыс через 28 суток после окончания терапии наблюдали нормализацию содержания ЛФХ на фоне повышения уровня фосфатидилхолина по сравнению с таковым у интактных животных, а в опухоли содержание лизофосфолипида и его предшественника не изменялось. Уровень свободнорадикального окисления в эритроцитах крыс на 1-е и 14-е сутки после лечения существенно не отличался от такового у контрольных и интактных животных, но через 28 суток после лечения в клетках крови и печени наблюдали нормализацию активности свободнорадикальных процессов. В ткани опухоли через 28 суток после курсового лечения баланс свободнорадикального окисления смещался в сторону активации антиоксидантной системы защиты. Таким образом, после проводимой терапии не обнаружено взаимосвязи между содержанием лизофосфолипида и активностью свободнорадикального окисления.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ УБИХИНОНА НА АКТИВНОСТЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ В ОРГАНАХ КРЫС С ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ

И. И. Непряхина¹, А. И. Дударь¹, Е. В. Крылова¹, А. Г. Соловьева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *Mileydi@bk.ru*

²Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр,
603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18/1

Среди актуальных проблем современной физиологии и медицины огромное внимание уделяется проблеме стресса. Такой интерес обусловлен все возрастающими антропогенными факторами, которые воздействуют на организм человека и животных, провоцируя развитие стресс заболеваний. Таким стрессом может быть термическая травма, которая сопровождается развитием эндогенной интоксикации. Ее суть состоит в накоплении в крови токсичных биологически активных компонентов в результате усиления катаболических процессов при снижении эндогенной детоксикации. В последнее время в медицине при лечении ряда заболеваний широко используют убихинон. Однако его роль в метаболизме альдегидов и влияние на активность оксидоредуктаз при термической травме не изучены. В связи с этим является актуальным изучение воздействия убихинона-10 на активность лактатдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы при ожогах. Целью данной работы является изучение влияния убихинона на активность оксидоредуктаз в органах крыс с термической травмой.

Эксперимент был проведен на белых крысах-самцах линии Wistar. Из 30 крыс массой 180–220 г. сформировали 3 групп животных: 1 – интактная группа; 2 – контрольная группа – ожог; 3 – опытная группа – ожог + убихинон. Животным под наркозом (золетил + ксила) наносили ожог III Б – IV степени. В контрольной группе животных осуществляли стандартное лечение. Животным опытной группы, аналогично контрольной, проводилось инфузионное (физиологический раствор) и местное лечение, в дополнение к которому ежедневно скармливался в течение 10 дней через зонд убихинон в весовой дозе 15 мг/кг, смешанный с оливковым маслом. На 11-ый день животных выводили из эксперимента путем декапитации. Печень, почки, сердце и легкие быстро извлекали, отмывали от крови и сразу помещали в стоящую на льду чашку Петри и измельчали ножницами. В стеклянном гомогенизаторе Поттера с тефлоновым пестиком (зазор между стенкой гомогенизатора и пестиком составлял 0,2–0,3 мм) готовили 10%-ый гомогенат тканей органа на основе среды, содержащей 0,25 М раствор сахарозы, 1 мМ раствор ЭДТА, 0,01 М трис – HCl – буфер ($pH=7,5$). Ткань гомогенизировали в течение 30–40 с, затем гомогенат центрифугировали 10 мин при 1000g на центрифуге Multifuge 1 SR ($t=0...+2^{\circ}C$). В гомогенатах печени, сердца, почек и лёгких оценивали активность ферментов.

Опыты показали, что использование убихинона-10 в комплексной терапии термической травмы оказало активирующее влияние на активность лактатдегидрогеназы в печени и почках и ингибирующее – в сердце и легких. Выявлено, что убихинон-10 оказывает активирующее влияние на активность алкогольдегидрогеназы как в прямой, так и в обратной реакциях во всех исследуемых органах, повышает удельную активность альдегиддегидрогеназы в печени, легких и сердце при термической травме.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЗМЕЙ ВОЛЖСКОГО БАССЕЙНА

В. Ю. Николаев, Е. И. Соломайкин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
darhtiger@ya.ru, e7v4gen5iy@yandex.ru

Гематологические показатели иммунитета могут служить как тест-системы для биоиндикации, которые отражают общее состояние организма и чувствительны к действию неблагоприятных факторов окружающей среды. Учитывая тот факт, что у рептилий уже происходит расхождение клеток по самостоятельным кровеносным и лимфатическим путям, изучение их гематологии представляет важный шаг на пути к исследованию иммуногемопозеза этих животных в условиях антропогенной трансформации среды. Мы изучали межпопуляционное сходство герпетофауны Волжского бассейна по показателям лейкоцитарной формулы крови методом кластерного анализа и главных компонент.

На территории Самарской и Саратовской областей в полевые сезоны 2012–2015 гг. были отловлены четыре вида змей: уж обыкновенный (*Natrix natrix*), 38 особей; уж водяной (*Natrix tessellata*), 123 особи; гадюка обыкновенная (*Vipera berus*), 61 особь; гадюка восточная степная (*Vipera renardi renardi*), 29 особей.

На межвидовом уровне в лейкоцитарных формулах крови ужа обыкновенного и ужа водяного, обитающих на территории Национального парка «Самарская Лука», значимых различий не выявлено. У ужа обыкновенного установлены различия по содержанию в крови базофилов (самки – самцы) и гетерофилов (самцы – неполовозрелые особи). Для гадюки обыкновенной в Самаре (Красноглинский район) выявлено развитие иммунных процессов и повышение защитной функции крови. Выявлены особенности лейкоцитарной формулы гадюки обыкновенной, по сравнению с гадюкой восточной степной в Саратовской области, определяющиеся как онтогенетическими особенностями, так и спецификой среды обитания, накладывающей отпечаток на иммунный статус змей. Получение набора иммуногематологических показателей у особей, относящихся к разным популяциям, позволило нам применить многофакторный анализ с целью выявления наиболее информативных признаков и группировки объектов исследования. Компонентный анализ позволяет вместо многочисленных исходных характеристик объектов исследования рассчитать несколько новых признаков, линейных индексов (названных главными компонентами), т. е. максимально эффективно справляется с задачей сокращения размерности. Участие компонент в дифференциации объектов было неодинаково. Количество выделяемых факторов (компонент) по критерию Кэттеля – 3, качество репрезентации при этом составляет 95,8%. Первая факторная ось, объясняющая 61,65% дисперсии, обладает наиболее сильной положительной корреляцией с содержанием в крови гетерофилов (91,35%) и эозинофилов (91,46%). Сильная отрицательная корреляция у первой факторной оси с содержанием в крови моноцитов (90,64%). Вторая забирает 21,95% оставшейся дисперсии, её роль меньше, чем роль первой компоненты. Вторая факторная ось, объясняющая 21,95% дисперсии, не имеет сильных положительных корреляций ни с одним параметром, но имеет сильную отрицательную корреляцию с содержанием в крови азурофилов (89,37%). График рассеивания объектов в пространстве главных компонент показал, что выборки из популяций змей одного рода были близки друг к другу по исследованным показателям, тогда как популяции разных семейств (*Colubridae* и *Viperidae*) располагались на значительном расстоянии друг от друга.

МОНИТОРИНГ «ХОЛОДНЫХ ЗИМОВОК» ВОДОПЛАВАЮЩИХ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ КАК ПУТЬ РАСШИРЕНИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О БИОРАЗНООБРАЗИИ РЕГИОНА

Д. А. Новиков

Мининский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 7;
denyakor7@mail.ru

Во второй половине XX века во многих регионах России сформировались так называемые «холодные зимовки» водоплавающих птиц – результат адаптации птиц к глобальному изменению климата и техногенным преобразованиям окружающей среды, благодаря которым стали массово возникать незамерзающие участки естественных и искусственных водоемов. Этот процесс привлекает пристальное внимание биологов, экологов, охотоведов. Растет число публикаций о различных аспектах этого явления (география и история формирования таких зимовок, фенологические характеристики, анализ популяционного и видового состава птиц, меняющих свой статус с перелетного на частично оседлый). Однако многочисленные исследователи оставляют без внимания важный, на наш взгляд, аспект – большое значение мониторинга количественных характеристик и видового состава зимующих птиц для процесса изучения биоразнообразия региона, что и побудило нас провести данное исследование. Ежегодно в третье воскресенье января Союзом охраны птиц России организуется Всероссийский учет зимующих водоплавающих, в проведении которого участвуют не только профессиональные орнитологи, но и многочисленные любители природы разных возрастов и профессий, которые активно используют фотофиксацию своих наблюдений. Результаты этого учета позволяют не только получить обширный материал для популяционных исследований, но и зафиксировать редкие или необычные для региона виды птиц, а также факты изменения характера их пребывания. В последние годы название этого учета изменено на более эмоционально привлекательное – «Операция «Серая шейка», что позволило существенно увеличить число участников учетов зимующих водоплавающих.

Нами проанализированы материалы Нижегородского отделения Союза охраны птиц России с 2004 по 2016 гг., связанные с проведением учетов зимующих водоплавающих – учетные листы и фотографии.

Ниже охарактеризованы наиболее интересные находки. В январе 2004 г. семь особей большого крохалея были отмечены на зимовке в полынье ниже плотины Нижегородской ГЭС. Это наблюдение позволяет отнести данный вид, занесенный в Красную книгу Нижегородской области, к числу частично оседлых в регионе. Кроме того, здесь же впервые были отмечены на зимовке орланы-белохвосты, занесенные в Красную книгу Российской Федерации. С тех пор зимовки белохвостов в регионе стали регулярным явлением. В феврале 2006 г. А.П. Левашкиным отмечены 14 серых гусей в Нижнем Новгороде, на холодной зимовке в районе Карповской церкви. Серый гусь исчез на гнездовании в регионе в первой половине XX века и сейчас встречается на пролете крайне редко. Встреча серых гусей на зимовке – крайне интересный факт. 29 ноября 2008 г. С.В. Баккой зарегистрирована единственная за всю историю орнитологических исследований в регионе встреча огаря. Этот факт относится к разряду случайных залетов, но без мониторинга «холодных зимовок» он остался бы неизвестным ученым. В начале марта 2015 г. в течение недели П.М. Шуковым отмечены четыре особи красноногого нырка (четвертый факт залета на территорию Нижегородской области за всю историю орнитологических исследований).

Нарастающие тенденции глобального изменения климата позволяют прогнозировать существенное увеличение количества зимующих водоплавающих в регионе и расширение их видового списка, что актуализирует мониторинговые исследования «холодных зимовок».

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ГЕНЕРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛОВ ВОЗБУЖДЕНИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Е. М. Новикова, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
n.catherine@inbox.ru

Потенциал действия (ПД) – кратковременное колебание электрического потенциала на плазматической мембране в ответ на внешнее раздражение. Впервые ПД был обнаружен у животных, но вскоре появились сведения о регистрации подобных сигналов у растений. При этом внешние воздействия провоцируют изменение физических свойств мембраны растительной клетки, что приводит к открытию ионных каналов и запуску генерации ПД. Он, в свою очередь, вызывает реакции физиологического ответа, переводящие растение в более устойчивое состояние. Детальное изучение ионного механизма ПД необходимо для понимания связи воздействия внешнего стимула и физиологического ответа на него. В результате экспериментальных и теоретических исследований была предложена следующая схема генерации ПД: в ответ на внешний стимул открываются кальциевые ионные каналы, входящий кальций блокирует работу протонной АТФазы и активирует хлорные каналы, что вызывает быструю деполяризацию, после которой открываются калиевые каналы и происходит реполяризация мембраны. Однако такая схема генерации ПД не учитывает возможность участия клеточных органелл в регуляции ионного гомеостаза, что может быть важно при анализе вызванного физиологического ответа. Целью настоящей работы является разработка математической модели генерации ПД высших растений, которая учитывает участие клеточных органелл в развитии электрической реакции.

При разработке модели было выделено три основные области: вакуоль, цитоплазма и апопласт, которые разделены мембранами (плазмалемма и тонопласт) и взаимодействуют между собой за счет систем активного и пассивного транспорта. В описании плазматической мембраны учтены кальциевые, хлорные и калиевые ионные каналы, протонная и кальциевая АТФазы, H^+/K^+ -антипортер и $2H^+/Cl^-$ симпортер. В описании тонопласта введены кальциевые, хлорные и калиевые ионные каналы, протонная и кальциевая АТФазы, H^+/K^+ , $2H^+/Cl^-$, $3H^+/Ca^{2+}$ -антипортеры. В модели учтена регуляция транспортных систем вторичными мессенджерами такими, как Ca^{2+} и IP_3 , а также влияние на ионный гомеостаз протонных, калиевых и кальциевых буферных систем апопласта, цитоплазмы и вакуоли.

На основе трехбарьерной модели канала и уравнения Гольдмана-Ходжкина-Хаксли было разработано уравнение для описания пассивного ионного транспорта, учитывающее эффект насыщения канала. Поток ионов через АТФазы описывается моделью с двумя состояниями, через симпортеры и антипортеры – с одним состоянием. На основе модели Othmer разработано описание динамики IP_3 и регуляция с помощью него вакуолярных кальциевых каналов. На основе литературных данных вычислены емкости буферных систем и разработаны подходы к описанию буферных систем.

По полученным различными авторами вольт-амперным характеристикам, концентрационным зависимостям и токам насыщения получены параметры уравнений, описывающих работу транспортных систем, а также их регуляцию кальцием, рН и потенциалом на мембране.

Дальнейшие исследования предполагают экспериментальную проверку модели, а также теоретический анализ связи внешних стимулов и вызванных ими физиологических ответов на ее основе.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИППОКАМПАЛЬНОЙ РИТМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГРЫЗУНОВ

И. Л. Новожилов, Т. А. Парфёнова, Н. В. Болдырева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
in92-92@yandex.ru

Ритмической активностью обладают такие отделы головного мозга как передний мозг и кора больших полушарий. В этих локусах мозга с помощью определённых методов для регистрации осцилляторной активности можно определить тип ритмов, их частоту, амплитуду и другие параметры. На сегодняшний день остаются нерешенными проблемы, связанные с лечением нейродегенеративных заболеваний, таких как шизофрения и эпилепсия. Нарушение осцилляторной активности в мозге может служить одним из факторов возникновения данных заболеваний.

Гиппокамп – это часть лимбической системы, участвующая в формировании эмоций, переходе кратковременной памяти в долговременную, генерации тета-ритма при удержании внимания.

Ритмическая активность в гиппокампе может быть вызвана в результате торможения (ингибирования) нейронов. Торможение является уникальным механизмом, который позволяет координировать и модулировать активность пирамидных (принципиальных) клеток гиппокампа. Данный процесс возможен лишь при участии интернейронов. Существует три основных способа торможения принципиальных нейронов в гиппокампе – прямое, возвратное и торможение торможения.

В ходе исследования были проведены серии операций по вживлению электродов в гиппокамп у мышей. Были изготовлены электроды, микросхемы. Данная гибридная установка была установлена на постамент для ведения хронического эксперимента. Электроды были изготовлены из проволоки диаметром 100 микрон марки Science Products. Записи велись с помощью пятиканальной установки для регистрации ритмической активности фирмы Triangle BioSystems.

В течение эксперимента мы соотносили данные о ритмической активности с поведением грызунов. Как известно, исследовательская активность животных соотносится с гиппокампальным тета-ритмом (имеет частоту 4–10 Гц), реакции стресса сопровождаются всплеском бета-ритмической активности в гиппокампе (10–30 Гц). Наблюдаемые изменения в ритмах, соответствовали вышесказанному. При помещении животного в новые условия (без раздражителей) мы наблюдали активное изучение животным новой среды и всплеск тета-ритмической активности, при различного рода стрессировании – наблюдали всплеск бета-ритмической активности. Далее планируется проведение серии экспериментов с введением животным различных препаратов, влияющих на концентрацию гамма-аминомасляной кислоты во внесинаптическом пространстве и соотнести полученные поведенческие данные и результаты записи ритмов мозга с контрольными данными, полученными с животных, не подвергавшихся воздействию препаратов.

ОЦЕНКА ШУМОПОГЛОЩАЮЩИХ СПОСОБНОСТЕЙ НЕКОТОРЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЙОШКАР-ОЛЫ

Е. С. Овчинникова, Е. А. Алябышева

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина 1;
ElenkaOni@yandex.ru, e_alab@mail.ru

Значимым физическим фактором, оказывающим влияние на среду обитания человека, является акустический шум, воздействие которого на людей в условиях плотной застройки населенных пунктов возрастает. Одной из мер защиты населенных пунктов от шума, возникающего на автомобильных дорогах, является использование зеленых насаждений. Имеются данные, что более эффективны в снижении шума – хвойные растения (сосна обыкновенная – *Pinus sylvestris*, ель колючая – *Picea pungens*, пихта белая – *Abies alba*), чуть менее эффективны в этом отношении лиственные деревья с плотными, раскидистыми и густооблиственными кронами (ясень зеленый – *Fraxinus lanceolata*, конский каштан – *Aesculus hippocastanum*, вяз шершавый – *Ulmus glabra*, липа войлочная – *Tilia tomentosa*).

Исследования проводились в июне – июле 2015 г. на территории скверов и лесопарка Йошкар-Олы (Республика Марий Эл) с 16 до 17 часов. Звук измерялся в соответствии с ГОСТ–20444-85.

В ходе работы было обнаружено, что на территории сквера им. Н. Бабушкиной и парка Победы произрастала липа мелколистная (*Tilia cordata*). Однорядовые посадки этих деревьев снижали уровень шума в среднем на 2,4 дБА. Липа мелколистная характеризуется крупной раскидистой кроной, но ее форма может деформироваться: при расстоянии 5–6 м между соседними деревьями в рядовых посадках на улицах нижняя часть кроны испытывает недостаток света, вследствие чего происходит отмирание побегов.

Однорядовые одновидовые посадки, состоящие из лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), произрастающие на территории лесопарка «Сосновая роща» не снижали уровень шума, а наоборот уровень шума увеличивали с 69,8 до 74,6 дБА. Крона лиственницы сибирской может быть самая разная по форме, протяженности, густоте в зависимости от условий произрастания. Наиболее часто встречаются деревья с прямым стволом, практически перпендикулярно расположенными по отношению к стволу толстыми сучьями; крона у молодых деревьев редкая и узкопирамидальная, у взрослых – высокоподнятая и ширококонусовидная.

Зеленые насаждения, представленные тополем советским пирамидальным (*Populus sibirica pyramidalis*) на территории парка 400-летия Йошкар-Олы характеризовались наибольшим шумопоглощающим эффектом (уровень звука в среднем на 3,1 дБА меньше чем в контроле). Тополь советский пирамидальный имеет узкую густую колонновидную крону с сильными ветвями, растущими вверх. По данным результатов исследований А.К. Разинковой (2013) в Воронеже из интродуцированных видов лиственных деревьев, используемых в линейном уличном озеленении, в наилучшем состоянии находятся посадки тополя пирамидального, что характеризует его устойчивость к антропогенной нагрузке.

Основное требование к зеленым насаждениям в отношении их шумозащитных качеств – это плотность их лиственного или хвойного покрова. При густом озеленении обеспечивается не только экранирующий эффект, но и создается дополнительное шумогашение за счет поглощения и отражения звука внутри зеленой массы. В связи с этим можно сделать предположение, что деревья с низко опущенными густыми кронами (тополь советский пирамидальный) лучше выполняли функцию звукопоглощения и звукоотражения, чем деревья с высоко оголенными стволами и негустой кроной (липа мелколистная, лиственница сибирская).

РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

П. Д. Осипова¹, Т. В. Капитуго^{1, 2}

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23; *osipova.pamila@yandex.ru*

²Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – хроническое прогрессирующее, клинически и генетически гетерогенное заболевание, характеризующееся прогрессирующей гибелью двигательных нейронов головного и спинного мозга. Вследствие гибели мотонейронов происходит денервация и атрофия соответствующих мышечных волокон. Болезнь неизлечима и ведет к летальному исходу. Поскольку этиология спорадической формы и механизмы избирательной гибели мотонейронов при БАС невыяснены, невозможно подобрать эффективное лечение. Однако возможна поддерживающая терапия.

В нашем сообщении рассматриваются этапы разработки препарата на основе рекомбинантных аденовирусных векторов для генной терапии БАС, а также терапевтическое действие продуктов экспрессии генов ангиогенина и фактора роста эндотелия сосудов, встроенных в рекомбинантный аденовирусный вектор. В отличие от других существующих типов терапии БАС, использование препарата на основе аденовируса человека 5-го серотипа имеет ряд преимуществ: они безопасны, нетоксичны, не обладают онкогенностью, имеют высокий уровень экспрессии трансгенов в клетках-мишенях.

Разработка данного средства для генной терапии БАС на основе рекомбинантных аденовирусных векторов ведется в ФГБУ «ФНИЦЭМ им Н. Ф. Гамалеи», Научном центре неврологии и Казанском государственном медицинском университете. Проведенные исследования на трансгенных мышцах дали следующие результаты: при повторном внутримышечном введении препарата имела место более поздняя (в среднем на 2–3 недели и более) манифестация болезни по сравнению с контрольными группами, а также (в отдельных наблюдениях) феномен «индуцированной ремиссии» с временным исчезновением клинической симптоматики и отсроченной повторной манифестацией парезов мышц спустя 2,5–3,5 недели. Продолжительность жизни группы экспериментальных трансгенных животных, которым проводились многократные повторные инъекции препарата была в среднем почти на 10% (22–23 дня) больше, чем у животных в контрольных группах.

Проведенные доклинические токсикологические исследования на экспериментальных животных различных видов (мыши, морские свинки, кролики, обезьяны) показали, что препарат не оказывает токсического действия в широком диапазоне доз, не обладает иммунотоксическим и местно-раздражающим действием. По результатам проведенных исследований не было выявлено результатов, препятствующих проведению клинических испытаний препарата. Препарат прошел клинические исследования первой фазы на добровольцах. Были получены следующие результаты: как первичное, так и повторное введение препарата не приводило к клинически значимому изменению жизненных показателей, результатов общего и биохимического анализа крови, общего анализа мочи и ЭКГ. Большинство нежелательных явлений, зарегистрированных после внутримышечного введения препарата, были ожидаемыми, учитывая природу препарата. Все наблюдавшиеся нежелательные явления были легкой или средней степени тяжести. Развития серьезных нежелательных явлений не было ни в одном случае. Таким образом, не выявлено противопоказаний по параметрам безопасности для дальнейшего изучения препарата у больных с БАС. На данный момент препарат проходит клинические исследования второй фазы по оценке эффективности и безопасности.

РОД МАНЖЕТКА (*ALCHEMILLA L.*) ВО ФЛОРЕ ЗАПОВЕДНИКА «БАСЕГИ»

Д. В. Пакина, А. В. Чкалов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
botanic5@yandex.ru

Государственный природный заповедник «Басеги» расположен на территории Гремячинского и Горнозаводского районов Пермского края. Горные субальпийские луга на территории заповедника являются уникальными растительными сообществами, немаловажным компонентом которых являются представители рода Манжетка (*Alchemilla L.*). Луга встречаются по всему хребту на восточных и западных его склонах и в межгорных седловинах, часто поднимаются вверх почти до каменистых россыпей.

Первые данные о видах манжеток, встречающихся на территории заповедника «Басеги», были получены при участии В. Н. Тихомирова. В дальнейшем эти данные дополнялись другими исследователями, публиковались в обобщающих сводках по флоре заповедника, таких, как «Сосудистые растения заповедника «Басеги» (Безгодов, 1994), «Конспект флоры заповедника «Басеги» (Зенкова, Леушина, 2015). В результате определения гербарного материала, полученного в ходе экспедиционных исследований, проведенных в июле 2015 г. на территории заповедника, и пересмотра гербария заповедника удалось уточнить данные о видовом составе манжеток во флоре заповедника «Басеги».

В результате проведенного исследования составлен аннотированный конспект флоры манжеток заповедника «Басеги», включающий 38 видов. 22 вида из собранных в экспедиции ранее не указывались для заповедника, 7 видов (*A. bungei* Juz., *A. confertula* Juz., *A. lessingiana* Juz. и др.) впервые указаны для территории Среднего Урала, 4 вида – *A. altaica* Juz., *A. heptagona* Juz., *A. kemlensis* Czkalov, *A. tichomirovii* Czkalov – впервые указаны для Урала. Выявлено новое местонахождение исключительно редкого вида *A. malimontana* Juz. Это вторая находка помимо *locus classicus* (гора Яман-Тау, Южный Урал).

ГЕОБОТАНИЧЕСКАЯ И ФЛОРИСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЦЕССА САМОЗАРАСТАНИЯ ДНИЩА УСТЬ-СОКСКОГО КАРЬЕРА

А. М. Панкевич

Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева,
443011, Самара, ул. Академика Павлова, 1; lika.pankevich@mail.ru

Исследование проведено в Усть-Сокском (Сокском или Западном) карбонатном карьере, который располагается в северной части городского округа Самара в пределах Красноглинского района на северном макросклоне Соколых гор, в нескольких километрах от места впадения р. Сок в Саратовское водохранилище.

Усть-Сокский карьер имеет корытообразную форму и представляет собой относительно крупное техногенное углубление в северном макросклоне Соколых гор, простирающееся на 2 км с запада на восток и на 1 км с севера на юг (по дну карьера). Относительная высота отвесных бортов техногенного котлована составляет десятки метров, в отдельных случаях она достигает 100–150 м. Основным элементом техногенного рельефа Усть-Сокского карьера служит широкое дно и скальные террасы, которые ограничивают карьер со всех сторон. Днище карьера в целом ровное и плоское. С поверхности оно сложено очень плотной слабОВОДОПРОНИЦАЕМОЙ карбонатной породой, в некоторых местах перемежающейся выходами монолитного скального фундамента. Промышленная разработка карьера была завершена около 45 лет назад, последующие рекультивационные работы на его территории не проводились.

На территории карьера видовое богатство сосудистых растений представлено 107 видами, 83 родов, 35 семейств, 5 классов, 4 отделов. На этом фоне днище карьера характеризуется существенно более низкими показателями: 22 вида сосудистых растений, из них 17 видов, 15 родов, 8 семейств – травянистые и 5 видов, 3 родов, 3 семейств – древесные. В процессе самозарастания днища Усть-Сокского карьера доминирующими пионерными видами древесных растений являются *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*, *Populus nigra*, *P. tremula*, *Salix caprea*. На днище карьера выявлены виды, занесенные в Красную книгу Самарской области: хвощ ветвистый (*Equisetum ramosissimum*), дремлик тёмно-красный (*Epipactis atrorubens*), дремлик широколистный (*E. helleborine*), дремлик болотный (*E. palustris*), тополь белый (*Populus alba*), боярышник волжский (*Crataegus volgensis*). Последний вид является эндемиком Среднего Поволжья.

Анализ экоморф показал, что в карьере встречаются локальные местообитания с достаточно разнообразными условиями произрастания. В понижениях днища карьера выявлены участки с повышенной влажностью, на которых произрастают более влаголюбивые виды (хвощи зимующий и ветвистый, дремлики болотный и темно-красный), возрастает их обилие и проективное покрытие. На изучаемых пробных площадях, представляющих собой типичные участки днища карьера, жесткость условий произрастания (высокая степень солнечной инсоляции, слабая влагоудерживающая способность карбонатного субстрата, недостаток и слабая доступность элементов минерального питания) сказывается не только на видовом разнообразии, но и на жизненном состоянии травянистых и древесных растений. Это проявляется в снижении показателей биомассы, проективного покрытия, высоты, диаметра стволов, а также в мелколистности побегов и хлоротичности листьев.

ПОЛУЧЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ДЕЙСТВИЕМ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Е. Н. Пармонова, Е. В. Лияськина, В. В. Ревин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва,
430032, Саранск, ул. Ульянова, 26б; el.nikolaevna0708@yandex.ru

Бактериальная целлюлоза (БЦ) обладает уникальными свойствами: высокой механической прочностью и сорбционной способностью, биологической совместимостью и т. д. В отличие от растительной целлюлозы она представляет собой химически чистый внеклеточный продукт. Молекулы БЦ образуют микрофибриллы в 100 раз тоньше микрофибрилл растительной целлюлозы. За счет правильного расположения волокон степень кристалличности БЦ достигает 70–89%. Переплетение волокон образует пористую структуру с большой удельной поверхностью и способностью к сорбции различных лекарственных препаратов. Таким образом, БЦ является перспективной матрицей для получения композиций с заданными свойствами и имеет большой потенциал использования в медицине. Плоская гель-пленка бактериальной целлюлозы – это идеальная повязка при пересадке кожи, лечении ран, послеоперационных швов и язв, а также гнойных воспалений, потертостей и пролежней. Это прочная, но одновременно – эластичная и комфортная повязка, хорошо прилегающая к пораженному участку тела. Гель-пленка бактериальной целлюлозы способна поддерживать оптимальный баланс влажности, стимулирующий заживление; пропускать жидкости и газы; безболезненно наноситься и так же безболезненно удаляться; активно насыщаться лекарственными препаратами и свободно отдавать их в поврежденную зону; поглощать продукты распада тканей и служить физическим барьером для инфекции. Активная роль бактериальной целлюлозы заключается в стимулировании регенерационных процессов. Она помогает восстановлению базальной мембраны, ускоряет эпителизацию и зарубцовывание. Бактериальная целлюлоза сама по себе не обладает антимикробными свойствами для предотвращения раневой инфекции. С этой целью в нее, например, включают наночастицы серебра или селена, которые обладают антимикробными, противовоспалительными и заживляющими свойствами. Также могут использоваться различные антибиотики. Однако огромной проблемой в медицине является постоянно наблюдающийся рост антибиотикорезистентности микроорганизмов. В связи с этим особое внимание привлекают лекарственные средства, которые активны в отношении множественно резистентных грамположительных и грамотрицательных бактерий. Антибиотик офлоксацин эффективен против микроорганизмов, которые устойчивы ко многим антибиотикам и сульфаниламидным препаратам. Целью данного исследования было получение материалов с антибактериальными свойствами на основе бактериальной целлюлозы и антимикробных препаратов, активных в отношении множественно резистентных возбудителей. Объектом исследования являлась БЦ, полученная с помощью бактерии *Glucanacetobacter sucrofermentans* (штамм В-11267), выделенной на кафедре биотехнологии Мордовского государственного университета. В ходе проведенных исследований установлено, что лучшими антисептическими свойствами и максимальной активностью в отношении *Staphylococcus aureus* обладают материалы на основе БЦ и антибиотика офлоксацина в концентрации 400 мкг/мл, что позволяет рекомендовать их применение в качестве раневых покрытий.

Работа выполнена при финансовой поддержке министерства образования и науки Российской Федерации в рамках базовой части госзадания, проект 2913 «Исследование условий получения новых продуктов и материалов из бактериальной целлюлозы».

ВЛИЯНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА НА АКТИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ С ПЕРЕВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ ШТАММА РС-1

М. П. Паратова, Е. А. Грачева, А. А. Бакулина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
paratowa.marya@yandex.ru

При развитии злокачественных новообразований нарушается баланс между процессами образования и нейтрализации свободных радикалов в тканях и происходит накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Современная противоопухолевая химиотерапия имеет серьезные побочные эффекты и приводит к еще большей активации свободно радикального окисления. В связи с этим, значительный интерес представляет исследование наноструктурированных препаратов, обладающих высокой противоопухолевой активностью в сочетании с антиоксидантными и адаптогенными свойствами.

Исследование проводилось на белых нелинейных крысах самках. Животные были разделены на 4 группы 1) интактные (относительная норма); 2) контроль (животные-опухоленосители без лечения); 3) опытная группа I (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота»); 4) опытная группа II (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – йод»). Введение препарата проводилось спустя 3 недели после перевивки опухоли перитуморально пятикратно, через день в объеме 0,25 мл на особь (доза ХТЗ 100мг/кг; пчелиный яд – 0,5мг/кг; золото – 0,25 мг/кг; йод – 1мг/кг). На 1-е, 14-е и 28-е сутки после окончания терапии в плазме крови определяли конечные продукты ПОЛ – основания Шиффа (ОШ) и мощность антиоксидантной системы. Результаты обрабатывали с помощью программы **BIOSTAT**.

Было установлено, что в опытной группе I содержание конечных продуктов липопероксидации на 1-е сутки было статистически значимо выше, чем в других группах, что объясняется с особенностью пчелиного яда как стресс-фактора. Через 14 суток после введения препарата «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота» наблюдалось статистически значимое увеличение мощности антиоксидантной системы, вероятно, за счет активации стресс-реализующих симпатико-адреналовой, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем, и как следствие, снижение количества конечных продуктов ПОЛ (содержание ОШ в опытной группе I статистически ниже, чем в контрольной группе).

В опытной группе II на 1-е сутки наблюдалось статистически достоверное увеличение мощности антиоксидантной системы за счет активации фермента пероксидазы. Содержание ОШ снизилось в 3 и 6 раз по сравнению с интактной и контрольной группой соответственно. На 14-е сутки в опытной группе «хитозан – йод» наблюдалось увеличение количества ОШ, что, возможно, связано с активацией фагоцитоза опухолевых клеток, возникшего под влиянием наноструктурированного препарата, содержащего йод.

На 28-е сутки в опытных группах («хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд» и «хитозан – йод») наблюдалось снижение уровня окислительных реакций, и количество конечных продуктов липопероксидации приблизилось к таковым у интактных животных.

Таким образом, пчелиный яд и йод в составе нанокомпозигов на 1-е и 14-е сутки реализуют разные механизмы влияния на процессы липопероксидации в организме животного с перевитой опухолью штамма РС-1. Однако, на 28-е сутки оба препарата начинают проявлять корректирующее действие на процессы ПОЛ, что, по всей видимости, связано с переходом организма в состояние устойчивой активации.

АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ КАСПАЗЫ-3 В ОПУХОЛЯХ ЖИВОТНЫХ С ПОМОЩЬЮ КОНФОКАЛЬНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ С ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ

Г. С. Перельман¹, Т. Ф. Сергеева², О. А. Злобовская³, В. В. Дуденкова^{1, 2}, М. В. Ширманова¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
perelman.greg@gmail.com

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Апоптоз – регулируемый процесс программируемой клеточной гибели. В настоящее время для визуализации апоптоза в живых клетках используют FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) сенсоры, состоящие из пары флуоресцентных белков (донор и акцептор), связанных аминокислотной последовательностью DEVD. Активированная каспаза-3 при запуске апоптоза расщепляет DEVD последовательность, FRET реакция становится невозможной, что приводит к изменению интенсивности и времени жизни флуоресценции донорного белка. Раннее выявление апоптоза может найти применение в биологии и медицине как один из способов определения эффективности применяемого лечения опухолей. Целью работы явилась разработка методики детекции апоптоза по активации каспазы-3 в опухолях животных с помощью нового генетически кодируемого FRET-сенсора.

Для создания опухолевой модели использовались клеточные линии: CT26; CT26, экспрессирующая FRET-сенсор mKate2–DEVD–iRFP и CT26, экспрессирующая белок-донор mKate2. Флуоресцентный имиджинг опухолей *in vivo* осуществлялся на установке IVIS-Spectrum (Caliper Life Sciences, США). Для оценки времени жизни флуоресценции mKate2 в опухолевой ткани использовали лазерный сканирующий микроскоп LSM 710 (Carl Zeiss, Германия), укомплектованный FLIM системой для время-разрешенной микроскопии (Becker&Hickl Ltd., Германия).

С помощью метода поверхностного флуоресцентного имиджинга было выявлено изменение интенсивности флуоресценции в опухолях животных CT26, экспрессирующих сенсор mKate2–DEVD–iRFP, в разные дни роста опухоли. Было показано, что отношение интенсивностей флуоресценции донора к FRET-паре в опухоли с закрытой и открытой кожей соответствовали друг другу. Для оценки эффективности FRET-реакции в экспериментальных опухолях были определены характер затухания и времена жизни флуоресценции в опухолевых клетках. В опухолях CT26, экспрессирующих белок mKate2, время жизни флуоресценции составило 2,28 нс. В опухолях CT26, экспрессирующих сенсор mKate2-DEVD-iRFP, были выявлены участки опухолевой ткани с разным временем жизни флуоресценции mKate2. В большинстве клеток время жизни флуоресценции донорного белка составило 1.44 нс, что соответствует времени жизни флуоресценции mKate2 во FRET-паре. При этом в отдельных клетках время жизни флуоресценции было близким к времени жизни флуоресценции свободного mKate2 (2.16 нс), что свидетельствует о разрыве в этих клетках FRET-сенсора вследствие активации каспазы-3 при запуске апоптоза.

Таким образом, в результате работы была разработана методика детекции FRET-сигнала по соотношению дальне-красной и инфракрасной флуоресценции каспазного сенсора в опухолях животных на основе метода конфокальной флуоресцентной микроскопии с временным разрешением.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №14-25-00129).

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ПОРФИРАЗИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ

Н. Н. Пескова¹, Н. Ю. Шилигина¹, С. А. Лермонтова^{1, 2}, А. А. Брилкина¹,
Л. Г. Клашина², И. В. Балалаева¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *nin-22@yandex.ru*

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является интенсивно развивающимся методом диагностики и лечения злокачественных новообразований. Необходимым этапом при исследовании каждого нового соединения является изучение механизмов его поступления в опухолевые клетки и внутриклеточного распределения. В настоящее время развивается подход к исследованию внутриклеточных мишеней фотосенсибилизаторов (ФС) с применением флуоресцентных белков.

Ранее нами была получена серия соединений из группы тетраарилтетрацианопорфиразинов, показано, что они обладают свойствами ФС, а их фотофизические характеристики существенно зависят от вязкости среды. Целями данной работы являлось исследование поглощения и внутриклеточной локализации потенциальных агентов для ФДТ из данной группы соединений на стабильно трансфицированных клеточных линиях с флуоресцентно маркированными органеллами, а также оценка возможности их использования для мониторинга ответа клетки на фотодинамическое воздействие.

Нами была произведена трансфекция клеточной линии Т-24 (карцинома мочевого пузыря человека) для получения производных флуоресцентных линий. Для этого методом липофекции в клетки был введен ген флуоресцентного белка TagGFP2, слитого с белком, определяющим его внутриклеточную локализацию (митохондрии или ядро). С использованием селекции на среде с антибиотиком и последующей серии оптических сортировок были получены стабильно трансфицированные клеточные линии с флуоресцентно маркированными внутриклеточными структурами.

Полученные линии клеток были использованы для исследования внутриклеточного распределения тетраарилтетрацианопорфиразина с 4-фторфенильными (Pz1) и нафтильными (Pz2) боковыми радикалами. Показано, что основными местами внутриклеточной локализации данных соединений в опухолевых клетках являются внутриклеточные мембраны, ядерная оболочка или прилегающие к ней структуры, что позволяет рассматривать именно мембраны в качестве первичных мишеней фотодинамического воздействия. Присутствие белков сыворотки крови в среде снижает скорость поступления порфиразинов в клетку. Показано, что для Pz1 и Pz2 в составе наночастиц на основе полимерных щеток (Pz1-PB) в стандартной культуральной среде основным механизмом поступления в клетку является диффузия. Поступление Pz2 осуществляется преимущественно путем активного транспорта по кавеолин-опосредованному пути эндоцитоза. Кроме этого, показано, что исследуемые порфиразины обладают выраженной фотодинамической активностью и при этом низкой темновой токсичностью. Регистрация времени жизни флуоресценции Pz1 позволила осуществить контроль за функциональным состоянием клеток в процессе развития фотодинамической реакции в режиме реального времени. Полученные результаты позволяют рассматривать тетраарилтетрацианопорфиразины в качестве перспективных соединений для ФДТ.

Работа частично выполнена в рамках Госзадания 2014/134 (проект № 2460), а также при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проект № 16-04-01676).

К ОЦЕНКЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВАРЬИРОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЯ ЗОЛЬНОСТИ ЛИСТЬЕВ (НА ПРИМЕРЕ СОРТОВ ГРУШИ, РЕКОМЕНДУЕМЫХ ДЛЯ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ)

А. Б. Петрова¹, А. А. Кузнецов²

¹Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королева, 443011, Самара, ул. Академика Павлова, 1

²НИИ «Жигулевские сады», 443072, Самара, 18 км Московского шоссе; viksian@yandex.ru

Присутствие в растительных тканях неорганических веществ, которые суммарно выступают в качестве «зольного компонента», тесно связано с их функциональной активностью. Данный показатель достигает максимума для листьев, в которых высокая метаболическая активность обеспечивается присутствием различных неорганических ионов в составе молекул ферментов, хлорофиллов, цитозоля. Обеспеченность важнейшими неорганическими компонентами является условием нормального функционирования листового аппарата, отклонения в сторону дефицита либо избытка микроэлементов дестабилизируют его работу. С другой стороны, после отмирания листьев опад в процессе деструкции не только выступает в качестве субстрата для развития организмов-редуцентов, но и пополняет фонд минеральных компонентов почвы, участвуя в формировании эдафических условий. У листопадных растений зольность листьев подвержена определенной сезонной динамике, а в изменчивых погодных условиях Самарской области проявляет также и заметные колебания по годам.

Образцы 25 сортов груш (преимущественно местной селекции) отбирались вторым автором ежемесячно с июня по сентябрь в вегетационные периоды 2012–2015 гг. и передавались для лабораторного изучения. Содержание зольных веществ определяли в воздушно-сухом фитоматериале методом сухого озоления в муфельной печи при +400°C.

Обобщение всего массива данных показало, что значения зольности листьев находятся в диапазоне от 4 до 11%, причем основная часть показателей лежит в области значений от 6 до 8%, что вписывается в диапазон значений зольности листьев для древесных листопадных растений нашей области.

В целом изменения зольности листовых пластинок у сортов груш, при обобщении показателей по месяцам в течение четырех вегетационных периодов, обнаружили сезонную динамику с подъемом от июня к июлю и последующим снижением для большинства сортов. Данные конкретного года могли не демонстрировать этой картины достаточно отчетливо. Значения зольности листьев в июне в неодинаковой степени варьировали по годам у разных сортов (значения коэффициента вариации R от 10 до 60%). Это можно связать с тем, что образцы листьев груш принадлежали сортам с различными сроками созревания и, вероятно, в начале вегетации физиологическое созревание листовых пластинок у них происходило с разной скоростью в зависимости от погодных условий года вегетации. Изменчивость показателя зольности листьев практически у всех изученных сортов была максимальной в июле ($20\% < R < 65\%$), что можно объяснить разным характером реакции сортов на варьирующие погодные условия, в первую очередь неодинаковую по годам выраженность засухи и экстремально высоких температур. Показатели августа, в меньшей степени сентября, оказались более стабильными (для большинства сортов $R > 25\%$). Возможно, это соответствует постепенному снижению метаболической активности и, как следствие, уменьшению физиологических изменений у листовых пластинок в ходе их сезонного старения. Все образцы показали довольно пластичный характер приспособления к изменчивым природно-климатическим условиям Самарской области.

ВЛИЯНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА «ХИТОЗАН – НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА – ПЧЕЛИНЫЙ ЯД» НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛОЙ КРОВИ ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

М. В. Подковырина, Т. В. Мотыгина, А. А. Бакулина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ritok22011994@mail.ru

Одной из наиболее важных проблем в лечении онкологических заболеваний является своевременная и точная диагностика заболевания, для чего необходим анализ крови. Отклонение параметров крови свидетельствует о развитии патологических состояний в организме. В общем анализе крови количество лейкоцитов возрастает при онкозаболеваниях, начиная со второй стадии рака. В современной медицине чрезвычайно важным является поиск терапевтических средств нового поколения с полифункциональными свойствами, которые при малой выраженности токсичности проявляли противоопухолевый эффект.

Работа выполнена на белых нелинейных крысах самках массой 150–200 г. Перевивка опухоли штамма РС-1 (альвеолярный рак печени) осуществлялась подкожно в паховую область. Животные были разделены на 4 группы: интактные (относительная норма); контроль 1 (животные-опухоленосители без лечения); контроль 2 (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – наночастицы золота»); опытная группа (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота»). Терапию начинали спустя 3 недели после перевивки опухоли. Препараты вводили по периферии новообразования путем пятикратного обкалывания с периодичностью 1 раз за двое суток. Забор крови производился из подъязычной вены на 1, 14 и 28-е сутки после окончания курсового введения препарата. Количество лейкоцитов определяли при помощи гематологического анализатора Abacus Junior 30. Подсчет лейкоцитарной формулы осуществляли на мазках крови общепринятым методом с окраской мазков по Романовскому-Гимзе. Дополнительно рассчитывали лейкоцитарный коэффициент.

На первые сутки после окончания курса введения препаратов у контрольных животных количество лимфоцитов и величина лейкоцитарного коэффициента были статистически значимо выше, чем у интактных животных; у животных группы, получавшей препарат «хитозан – наночастицы золота», количество лимфоцитов и величина лейкоцитарного коэффициента находились в состоянии нормы; у животных, получавших препарат «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд», количество лимфоцитов и величина лейкоцитарного коэффициента более статистически значимо ниже, чем у интактных животных.

На 14-е сутки после окончания введения препаратов животные контрольной группы продолжали находиться в состоянии активации; состояние животных группы, получавших препарат «хитозан – наночастицы золота», находилось в состоянии нормы; животные, получавшие препарат «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд», начали выходить из состояния стресса в состояние относительной нормы.

На 28-е сутки после окончания введения препаратов животные контрольной группы перешли из состояния активации в состояние стресса; группы животных, получавшие препараты «хитозан – наночастицы золота» и «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд», находились в состоянии нормы.

Таким образом «хитозан – наночастицы золота» и «хитозан – наночастицы золота – пчелиный яд» обладают противоопухолевым эффектом.

ОСОБЕННОСТИ РАССЕЯНИЯ ПЛОСКОЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ВОЛНЫ НА МИЕЛИНИЗИРОВАННОМ АКСОНЕ

А. А. Попова, В. А. Еськин, А. В. Кудрин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
popova.anna.andr@gmail.com

Исследовано рассеяние плоских электромагнитных волн H и E поляризаций на одиночном аксоне с продольно однородной миелиновой оболочкой. Данная задача представляет интерес в связи с развиваемыми в последнее десятилетие бесконтактными методами возбуждения нервных волокон посредством их облучения пучками электромагнитных волн оптического и инфракрасного диапазонов частот. Отметим, что, несмотря на большое количество работ по данной тематике, до сих пор нет ясности в причинах, вынуждающих нервное волокно посылать импульсы при облучении пучками электромагнитных волн.

Применительно к случаю нормального падения плоских электромагнитных волн H и E поляризаций на миелинизированный аксон получены выражения для компонент рассеянного и внутреннего полей. Найдены и проанализированы зависимости максимального значения продольной компоненты электрического поля при рассеянии E -волны и максимального значения радиальной компоненты электрического поля при рассеянии H -волны на внутренней границе аксона от длины волны в диапазоне от 100 нм до 1 мм. Показано, что с возрастанием длины волны максимальное значение продольной компоненты электрического поля не монотонно уменьшается. На примере структур полей для нескольких длин волн продемонстрировано, что с ростом длины волны область сильного поля вблизи внутренней границы аксона увеличивается. Установлено, что максимальное значение радиальной компоненты электрического поля имеет квазипериодическую зависимость от длины волны. Показано, что область сильного поля вблизи внутренней границы аксона при рассеянии H волны увеличивается с ростом длины волны.

Кроме того, показаны распределения плотности джоулевых потерь в области аксона и проанализированы зависимости этой величины от длины падающей волны для обеих поляризаций. Установлено, что полные джоулевы потери в случае H -волны больше, чем в случае E -волны во всем рассматриваемом диапазоне длин волн. Показано, что во внутренней части аксона область максимальных джоулевых потерь увеличивается с ростом длины волны.

Полученные результаты могут быть использованы при интерпретации экспериментов по возбуждению нейронов электромагнитными волнами оптического и инфракрасного диапазонов частот, а также для совершенствования существующих систем такого возбуждения и создания новых устройств стимуляции активности нейронов.

ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ В КРОВИ ЦЕСАРОК

О. В. Попова¹, Н. И. Иванушкина², Н. В. Мамаева¹

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
yasminka1@mail.ru

²ОАО «Марбиофарм», 424000, Йошкар-Ола, ул. Карла Маркса, 121

Практически при любой патологии и стрессовом воздействии на организм активируются процессы свободнорадикального окисления. Эффективным инструментом локального действия благодаря своей высокой реакционной способности являются активные формы кислорода (АФК). Образование АФК в клетках строго уравновешено действием защитных антиоксидантных систем. При значительном недостатке или инактивации этих систем количество АФК существенно возрастает и обуславливает развитие окислительного стресса и деструктивных изменений мембран вследствие активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Патологическая активация ПОЛ может привести к необратимому изменению и повреждению мембранных структур, нарушению их проницаемости. Повреждающий эффект оказывает не столько пероксидация липидов, сколько истощение собственных антиоксидантных систем клетки.

Знание характера и интенсивности протекающих процессов пероксидации липидов в условиях воздействия различных факторов на организм продуктивных животных – важный этап исследований с целью разработки методов регулирования адаптации, профилактики и терапии наиболее распространенных заболеваний животных и птиц в современном животноводстве и птицеводстве. Целью исследования явилось изучение интенсивности процессов пероксидации липидов в крови цесарок различных популяций.

В современной литературе мало данных по исследованию интенсивности продукции АФК и других свободных радикалов и интенсивности перекисных процессов у цесарки (*Numida meleagris*). Очевидным представляется важность оценки интенсивности процессов перекисного окисления и генерации АФК в организме цесарки в виду получившего в последние годы популярность продуктивного разведения данного вида птицы. Анализ показателей, характеризующих интенсивность ПОЛ позволит сделать заключение, в том числе и о продуктивных качествах разных популяций цесарки, используемых для разведения. Была проведена оценка первичных и вторичных продуктов ПОЛ, а также осмотической стойкости эритроцитов по уровню их гемолиза у цесарок голубой и серо-крапчатой популяций и волжской белой породы, содержащихся в цесарином генофондном хозяйстве Республики Марий Эл ЗАО «Марийское».

В ходе проведенных исследований было обнаружено, что содержание диеновых конъюгатов в плазме крови самцов цесарок голубой популяции существенно выше, чем у самок этой же популяции и самцов, и самок других популяций ($p=10^{-6}$). Самцы голубой популяции также отличаются от других особей более высоким содержанием МДА в эритроцитах ($p<0,0005$). Полученные результаты могут быть обусловлены низкой эффективностью, в первую очередь, жирорастворимых полифенольных антиоксидантов. Проведенный корреляционный анализ выявил у цесарок голубой популяции высокую степень зависимости образования вторичных и первичных продуктов ПОЛ. Интенсивность и степень гемолиза эритроцитов цесарок исследуемых групп значимо не различаются.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ HER2-СПЕЦИФИЧНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ИММУНОТОКСИНА НА КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЯХ ОПУХОЛИ *IN VITRO*

А. Д. Пужихина¹, О. М. Кутова¹, Е. А. Соколова¹, Е. Л. Гурьев¹, С. М. Деев^{1, 2},
И. В. Балалаева¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
puzhikhina.alena@gmail.ru, papicat@rambler.ru

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

В настоящее время для тестирования эффективности таргетных противоопухолевых агентов *in vitro* наиболее часто используется монослой клеток. Однако монослойная культура не отражает реального строения злокачественного образования в живом организме. Решением данной проблемы могут выступать трехмерные клеточные модели (сфероиды), представляющие собой промежуточный вариант между исследованиями *in vitro* и *in vivo*.

Целью работы стала оценка эффективности рекомбинантного иммунотоксина DARPIn-ETA на двух клеточных моделях: монослойной культуре клеток и сфероиде. Направляющий модуль иммунотоксина представлен белком из класса дарпинов. Белки этого класса созданы на основе повторов в молекуле природного анкирина и способны, подобно антителам, к высокоспецифичному связыванию с антигеном, специфичность к которому придается им методами генной инженерии. Эффекторный модуль представлен псевдомонадным экзотоксином А, лишенным собственного связывающего домена. Исследуемый иммунотоксин обладает специфичностью к онкомаркеру HER2, гиперэкспрессия которого характерна для многих опухолей эпидермального происхождения.

Иммунотоксин был наработан в бактериальных продуцентах (штамм *Escherichia coli* BL21(DE3)) и очищен в 3 стадии хроматографическими методами: металлоаффинной и ионообменной хроматографией, а также методом гель-фильтрации. Присутствие иммунотоксина в конечном образце было подтверждено вестерн-блот анализом. Эксперимент по определению цитотоксичности DARPIn-ETA проводился методом МТТ-теста на монослойной культуре клеток аденокарциномы молочной железы человека SKBR-3, характеризующихся гиперэкспрессией рецептора HER2, и сфероиде, полученных из клеток данной линии. Сфероиды были получены с использованием культурального пластика со сверхнизкой адсорбцией. Кроме того, было исследовано проникновение иммунотоксина внутрь сфероиде методом конфокальной микроскопии. Для этого DARPIn-ETA предварительно конъюгировали с флуоресцентным красителем DyLight650.

В ходе эксперимента было выяснено, что сфероиды обладают значительной резистентностью к действию иммунотоксина, по сравнению с монослоем клеток. Так, концентрация, ингибирующая рост клеток на 50% относительно необработанного контроля (IC₅₀), для сфероидов более чем на три порядка превосходила таковую для монослоя клеток. Причиной такого существенного различия может являться ограниченная глубина проникновения DARPIn-ETA внутрь сфероиде, которая составила 80–120 мкм (при диаметре сфероиде 400–700 мкм). Аналогично, структура опухолевой ткани и наличие плотных межклеточных контактов ограничивают эффективность действия противоопухолевых препаратов *in vivo*. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что сфероиды более предпочтительны в исследованиях *in vitro*, по сравнению с монослойной культурой клеток, так как их структура приближена к строению опухоли в живом организме.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (договор № 14.Z50.31.0022) и РНФ (проект № 14-14-00813).

ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ НА СПОНТАННУЮ АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ

Ю. А. Путькина¹, Е. Г. Сухарева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
colorado1994@mail.ru

²Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава РФ,
603155, Нижний Новгород, ул. Верхне-Волжская набережная, 18

Известны немногочисленные исследования о влиянии эритроцитарных микровезикул на процесс свертывания крови, которые, главным образом, посвящены их роли в плазменном гемостазе. В большинстве работ указывается на то, что эритроцитарные микровезикулы стимулируют процесс свертывания крови, путем предоставления фосфолипидной поверхности для сборки теназного и протромбиназного комплексов. Влияние эритроцитарных микровезикул на тромбоцитарный гемостаз, прежде всего на агрегацию тромбоцитов, остается мало изученным.

Исследование проведено на крови здоровых доноров стабилизированной раствором гемоконсерванта «Гемасин» 500/400 (Синтез, Россия) в соотношении 4:1. Кровь центрифугировали в течение 7 минут при 1000 об/мин, удаляли обогащенную тромбоцитами плазму, оставшуюся кровь центрифугировали в течение 20 минут при 3000 об/мин, отбирали бестромбоцитарную плазму, удаляли лейкоцитарно-тромбоцитарную пленку и выделяли эритроцитарную массу. Микровезикулы получали путем инкубации предварительно отмытых (с добавлением гемоконсерванта) и неотмытых эритроцитов в течение 28 суток при 4°C. Эритроцитарные микровезикулы осаждали с помощью центрифугирования при 20000g. Определение влияния эритроцитарных микровезикул на спонтанную агрегацию тромбоцитов проводили на реоскопе, в котором использован принцип, предложенный H. Schmid-Schönbein et al. (1973).

Как показали проведенные исследования микровезикулы, выделенные из отмытых эритроцитов, снижали скорость спонтанной агрегации тромбоцитов на 42%, а степень – на 25% по сравнению с контролем. Одним из возможных механизмов действия эритроцитарных микровезикул может являться их способность инактивировать один из ведущих индукторов агрегации – тромбин. Для уточнения возможности наличия антитромбинового эффекта микровезикул эритроцитов мы исследовали их влияние на конечный этап свертывания крови. При этом было установлено, что микровезикулы, выделенные после консервации эритроцитов в течении 28 суток, замедляли тромбиновое время плазмы крови почти в 2 раза. Однако, увеличение времени коагуляции в данном случае могло быть также связано с замедлением полимеризации фибрин-мономеров. По результатам исследования установлено, что микровезикулы эритроцитов не оказывали заметного влияния на этот процесс.

Противоположные результаты получены при исследовании влияния микровезикул, выделенных из неотмытых эритроцитов. Степень и скорость агрегации тромбоцитов в этих условиях увеличивались и были выше контроля на 28% и 43%, соответственно. Кроме этого, добавление к обогащенной тромбоцитами плазме микровезикул, выделенных из неотмытых эритроцитов, приводило к образованию нитей фибрина, на которых фиксировались сами тромбоциты и их агрегаты. Образование нитей фибрина свидетельствует о происходящей в этих условиях генерации важнейшего индуктора агрегации тромбоцитов – тромбина. При добавлении ингибитора тромбина – гирудина, образования фибрина не происходило, а агрегация тромбоцитов снижалась.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

И. А. Радостева, И. Е. Скворцова

Нижегородский медицинский базовый колледж,
603011, Нижний Новгород, ул. Июльских дней, 8

Здоровый образ жизни – это не только регулярные физические упражнения, но и навыки личной гигиены, о которых ритмы современной жизни иногда заставляют забывать. В рамках микробиологического кружка «Прежде, чем начнется наука» было проведено исследование «Микрофлора ротовой полости курящих и некурящих людей», позволяющие дать микробиологическое обоснование некоторых аспектов здорового образа жизни.

Известно, что курильщики чаще болеют раком легких и других органов, но это серьезные последствия длительной вредной привычки. Мы замечаем, что у курильщиков неприятный запах изо рта, желтые зубы специфический кашель. А это значит, что пагубное воздействие начинается незамедлительно и действует на человека с первой выкуренной сигареты. Но мало кто задумывается, что все начинается с малого, а именно, с ротовой полости. Поэтому данная исследовательская работа особенно актуальна.

Цель данной учебно-исследовательской работы – микробиологическое обоснование влияния табакокурения на микрофлору ротовой полости. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи: изучить Интернет-источники и научную литературу по данному вопросу; провести анкетирование студентов; на основании проведенного анкетирования выбрать экспериментальную и референтную группу; провести микробиологическое исследование ротовой полости в обеих группах; проанализировать и оценить полученные результаты.

Практическая часть состояла в выборе волонтеров, готовых пройти микробиологическое исследование, проведении в группах анонимного анкетирования (всего 71 человек). На основании данных анкетирования были сформированы 2 экспериментальные группы (10 и 9 человек). Контролем служили данные микрофлоры ротовой полости некурящих людей (52 человека). У волонтеров производился отбор проб микробиологических мазков ротовой полости с последующей окраской по Граму, микроскопированием и анализом полученных результатов.

Результаты микробиологического анализа показали, что в микробном пейзаже ротовой полости курящих людей преобладает стафилококковая и грибковая микрофлора, разнообразие микроорганизмов незначительное. Разнообразие микробного пейзажа некурящих людей свидетельствует о нормальной колонизации слизистой и выполнении защитной функции.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что слизистая оболочка ротовой полости курящих людей подвержена воспалительным процессам, что провоцирует различные заболевания зубов и ротовой полости. Таким образом, результаты учебно-исследовательского проекта убедительно доказывают необходимость отказа от вредных привычек и соблюдения гигиенических норм.

О РОЛИ П. В. СЕРЕБРОВСКОГО В ИССЛЕДОВАНИЯХ РЕГИОНАЛЬНОЙ ОРНИТОФАУНЫ

Д. О. Растунина

Мининский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 7;
rastunina2016@yandex.ru

Изучение орнитофауны Нижегородской области (тогда губернии) началось с исследований П. В. Серебровского, проведенных им в 1908–1912 гг. Они стали отправной точкой для проведения мониторинга орнитофауны региона и ее антропогенной трансформации, активно используются орнитологами и экологами, работающими в Приволжском федеральном округе. Однако этот ценный научный материал не доступен широкому кругу исследователей: книгу П. В. Серебровского (1918) практически невозможно найти в библиотеках. Частично исправляет ситуацию размещение сканированного текста книги на сайте экоцентра «Дронт» (<http://dront.ru/files/publications/serebrovsky-1918.pdf>), однако систематика и номенклатура птиц того времени во многом устарели. К тому же текст в упомянутом pdf-файле не распознан, что создает трудности в его использовании.

Студентами и преподавателями НГПУ для оценки роли исследований П. В. Серебровского в истории биоэкологических и фаунистических исследований в регионе осуществлены следующие работы с применением ГИС-технологий: а) для оценки репрезентативности проведенных исследований в 1908–1912 гг. структурировали информацию и создали генерализованную схему мест проведения его исследований на территории региона относительно современных природно-территориальных комплексов; б) составлена база данных о фактах обнаружения и добычи птиц разных видов на территории региона, содержащую сведения о 956 находках; в) создана подробная карта мест находок различных видов птиц, позволившая уточнить места проведения исследований П. В. Серебровского. Выделялись виды птиц, занесенных в Красную книгу Нижегородской области, и эта информация использовалась при подготовке второго издания региональной Красной книги.

П. В. Серебровским собрана большая орнитологическая коллекция, которая хранится в зоомузее МГУ и отчасти – в фондах Нижегородского государственного краеведческого музея. Она активно используется учеными из разных регионов для эколого-фаунистических и систематических исследований. П. В. Серебровский долгое время работал заведующим сектором орнитологии в ЗИН АН СССР и погиб в блокадном Ленинграде. Его научная биография оказалась утраченной и была восстановлена в результате исследований Н. Ю. Киселевой (2015). Выянилось, что ученый – наш земляк, уроженец современного Первомайского района, впоследствии учившийся в Нижегородской гимназии, а затем поступивший в Московский университет и работавший под руководством М. А. Мензбира. Представляется целесообразным увековечить память о П. В. Серебровском в Первомайском краеведческом музее, а также зоомузеях ННГУ им. Н.И. Лобачевского и НГПУ им. К. Минина.

БЕЛКИ OCT4, SOX2, KLF4, C-МУС, NANOG В ОПРЕДЕЛЕНИИ СВОЙСТВ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

А. Р. Рахматуллина, Р. Р. Мифтахова, Р. Н. Мингалеева, А. А. Ризванов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
rahmatullina_2011@mail.ru

На сегодняшний день зарегистрировано 14,1 млн. новых случаев онкологических заболеваний, из них 8,2 млн. случаев закончились смертельным исходом. Для большинства видов опухолей смертность сопряжена с метастазированием и рецидивом заболевания. Последние данные свидетельствуют, что развитие этих процессов связано с популяцией стволовых опухолевых клеток (СОК), составляющих всего 0,0001–0,1% от общей массы опухоли. Эти клетки являются более агрессивными и менее дифференцированными по сравнению с основной массой клеток опухоли. СОК характеризуются повышенной экспрессией генов плюрипотентности, таких как oct4, sox2, NANOG, Klf4, c-Мус. Цель работы – оценить влияния белков Oct4, Sox2, Klf4, c-Мус и NANOG на свойства СОК карциномы молочной железы человека.

Каждый из исследуемых генов был гиперэкспрессирован в клетках MCF7, трансфектанты были получены с помощью лентивирусной трансдукции, так как вирусные системы доставки являются высокоэффективными и природными системами переноса генов. Оценку экспрессии белков проводили с помощью иммуноблоттинга белков, количество СОК оценивалось в тесте на сферообразование стволовых клеток, для характеристики клеток были проведены тесты на пролиферацию и миграцию.

В результате исследования нами были получены клетки карциномы молочной железы человека, стабильно экспрессирующие гены Oct4, Sox2, Klf4, c-Мус и NANOG. Мы показали, что повышение экспрессии белков Oct4, Klf4, NANOG приводит к увеличению процентного содержания СОК в клеточной линии MCF-7. При этом, скорость пролиферации клеток зависела от уровня экспрессии белка Oct4. Повышение миграционной способности клеток наблюдалось при экспрессии белков c-Мус и NANOG.

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ РОСТА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК НА РАННЕЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ АВАСКУЛЯРНОЙ ОПУХОЛИ

В. С. Розова, А. В. Звягин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vsrozo@mail.ru

На ранней стадии развития аваскулярная опухоль может достигать 1–2 мм в диаметре в зависимости от концентрации питательных веществ и кислорода в окружающей среде. Кроме того, возможным объяснением ограничения роста опухоли может быть повышенная концентрация лактата, продуктов распада и других ингибирующих факторов. Для количественного описания механизмов роста и взаимодействия клеток последовательно разрабатывается трехмерная математическая модель, основанная на индивидуальных свойствах клеток. Для валидации модели используются данные из экспериментов на клеточной линии немелкоклеточного рака легких, взятые из литературы.

С использованием специального программного обеспечения строится простейшая модель роста многоклеточного сфероиды при различных концентрациях кислорода и глюкозы. Процессы на клеточном уровне, такие как динамика роста, пролиферация и клеточная смерть, описываются с применением агентного моделирования, что позволяет учитывать состояние и индивидуальные свойства каждой клетки. Распространение химических веществ моделируется частными дифференциальными уравнениями. Модель предсказывает образование некротического ядра в центре сфероиды, а также слоя покоящихся клеток в зоне с недостаточной концентрацией кислорода, однако, анализ чувствительности показывает, что необходимо последовательное расширение модели с включением дополнительных механизмов регуляции роста сфероиды. Согласно последним исследованиям, клетки стремятся поддерживать количество молекул АТФ на постоянном уровне, переключаясь между аэробным и анаэробным метаболизмом в зависимости от концентраций кислорода и глюкозы в питательной среде. Кроме того, предполагается, что повышенный уровень лактата, продукта анаэробного гликолиза, провоцирует клеточную смерть. Оба механизма учитываются в модели посредством частных дифференциальных уравнений. Пороговые значения и значения параметров выводятся из сравнения динамики роста с экспериментальными данными.

Наконец, рассматриваются несколько подходов к моделированию влияния внеклеточного матрикса и межклеточной адгезии. Экспериментальные данные показывают, что клетки внешнего слоя обладают более низкой способностью к пролиферации, чем клетки внутри сфероиды. В то же время результаты экспериментов свидетельствуют о снижении концентрации внеклеточного матрикса ближе к поверхности сфероиды. Предполагается, что одна из функций внеклеточного матрикса заключается в контроле прохождения клеткой клеточного цикла и снижение концентрации матрикса приводит к снижению пролиферации на поверхности сфероиды. С другой стороны, внеклеточный матрикс во многом определяет фенотип клеток и регулирует эпителиально-мезенхималиальный переход, то есть оказывает непосредственное влияние на пролиферацию, адгезию и миграцию клеток. Производится сравнение дискретной и непрерывной моделей для описания внеклеточного матрикса и его влияния на развитие опухоли.

МОДИФИКАЦИЯ ГЕПАРИНОМ ТЕРМОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ЗМЕИНЫХ ЯДОВ

Ю. А. Романова, М. А. Шабалин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shabalin-mihail@rambler.ru

На кафедре биохимии и физиологии ННГУ в многочисленных работах было показано термопротекторное действие змеиных ядов. Однако имеются лишь единичные сведения о влиянии эндогенного и экзогенного гепарина на термопротекторные свойства ядов змей, отличающихся друг от друга эффективностью температурной адаптации.

При высокой внешней температуре на фоне введения яда кобры продолжительность жизни увеличивается с $45 \pm 0,5$ мин в контроле при температуре $+50^\circ\text{C}$ до $61 \pm 1,4$ мин. При совместном введении яда кобры и гепарина в виде смеси в соотношении 1:0,05, а также при предварительном введении гепарина в дозе 50 и 500 МЕ/кг продолжительность жизни крыс уменьшается на фоне повышения дозы яда. При внутрибрюшинном введении гепарина в дозе 5 и 5000 МЕ/кг с последующим введением яда кобры и температурной экспозицией продолжительность жизни лабораторных животных увеличивалась относительно показателей при гипертермии. Следует отметить, что термопротекторный эффект яда кобры при предварительном введении гепарина в дозе 5000 МЕ/кг сдвигался в сторону повышения дозы яда. Максимальная продолжительность жизни регистрировалась при введении 4 мг/кг яда кобры. Блокада эндогенного гепарина протамина сульфатом сопровождалась мощным потенцированием термопротекторного феномена яда кобры, и максимальная продолжительность в этом случае увеличивалась до $98 \pm 1,4$ мин.

Совместное применение яда гюрзы и гипертермии сопровождается увеличением продолжительности жизни лабораторных животных. При введении смеси яд – гепарин в соотношении 1:0,0005, а также при предварительном внутрибрюшинном введении гепарина в дозе 5 МЕ/кг термопротекторные свойства яда гюрзы не проявляются, а продолжительность жизни уменьшается параллельно увеличению дозы яда. При предварительном введении гепарина в дозе 50, 500 и 5000 МЕ/кг с последующим введением яда гюрзы и тепловой экспозицией по обычной схеме эксперимента, представленной выше, термопротекторные свойства не только проявляются, но при инъекции гепарина в дозе 500 и 5000 МЕ/кг потенцируются. Так, при введении гепарина максимальная продолжительность жизни крыс равна $58 \pm 2,2$ мин, не отличаясь от показателей без гепарина ($60 \pm 4,0$ мин), а при введении гепарина в дозе 500 и 5000 МЕ/кг увеличивается до $71 \pm 2,3$ и $81 \pm 2,9$ мин соответственно. Более значимое потенцирование термопротекторных свойств яда гюрзы отмечается при блокаде эндогенного гепарина протамина сульфатом. В условиях вызванной гипогепаринемии продолжительность жизни крыс увеличивается до $98 \pm 3,0$ мин.

Термопротекторные свойства яда эфы выражены значительно сильнее, чем у всех предыдущих исследованных зоотоксинов. Уже в дозе яда 1 мг/кг продолжительность жизни крыс возрастает с $40 \pm 3,0$ мин до $125 \pm 3,2$ мин. Термопротекторные свойства яда эфы проявляются даже при введении его в дозе 20 мг/кг, хотя DL_{50} для крыс равна $5,2 \pm 0,3$ мг/кг. Максимальная продолжительность жизни животных регистрируется при введении яда в дозе 6 мг/кг и соответствует $159 \pm 9,2$ мин. При совместном введении яда эфы с гепарином в соотношении 1:0,005, а также при предварительном введении гепарина в дозе 5 МЕ/кг термопротекторные свойства яда эфы сохраняются. Однако продолжительность жизни в этих двух случаях несколько снижается, хотя превышает показатели температурного шока. Продолжительность жизни экспериментальных животных при предварительном введении гепарина в дозе 50, 500 и 5000 МЕ/кг, а также введение протамина сульфата достоверно не отличается от показателей продолжительности жизни, зафиксированные при совместном применении яда эфы и гипертермии.

ВОДНО-БОЛОТНЫЕ ПТИЦЫ КЕРЖЕНСКОГО ЗАПОВЕДНИКА ПОСЛЕ СИЛЬНОГО ПИРОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Ю. А. Рулева, О. С. Носкова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина 23;

ruleva.u.a@yandex.ru, noskova.o.s.@gmail.com

В засушливое лето 2010 г. территория природного заповедника Керженский значительно пострадала от огня. Индикатором постпирогенных изменений для данной территории выступили водно-болотные птицы. Ежегодные маршрутные учеты птиц без фиксированной учетной полосы проводились в летний период 2011–2015 гг. Маршрутами пройдено 1600 км. Обследованы 7 основных типов местообитаний (лесных и открытых), отличающихся по степени повреждения огнем (после низового, верхового пожаров), а также их сохранившиеся аналоги.

За 5 лет отмечено 34 вида водно-болотных птиц (24% орнитофауны заповедника), в т.ч. 1 вид цаплевых, 7 – утиных, 3 – ястребиных, 3 – журавлеобразных, 12 – ржанкообразных, 8 – воробьинообразных. Из них 32 вида встречается в гнездовой период, 16 – в послегнездовой. Наиболее часто в течение лета встречаются только 6 видов (кряква, чирок-свистун, черныш, большой улит, бекас и садовая камышевка).

В первый год после пожаров среди водно-болотных птиц на сильно нарушенных огнем участках березово-сосновых лесов и верховых болот по обилию преобладали утиные (до 17% обилия орнитокомплекса, 81 особь/кв. км) – чирок-свистун (до 9%) и кряква, которая во второй половине лета входит в число доминантов (до 13%). Это связано с высокой обводненностью территории вследствие выгорания торфа верховых болот и древостоя. Постепенно за счет развития на горях березового подроста территория осушается, и к 2015 г. участие утиных в населении птиц снизилось. Первые три года на нарушенных участках березово-сосновых лесов заметна доля куликов (до 6% в 2011 г.). Из воробьиных птиц к 2012 г. на зарастающих кипреем горях единично отмечалась садовая камышевка, а в 2013 г. – болотная камышевка (в основном на верховых болотах). На третий год после пожаров на открытых горях эти виды составили до 3% обилия орнитокомплексов. Участие камышевок в населении птиц сохранилось на том же уровне на следующий год, а к 2015 г. снизилось. В 2015 г. водно-болотные виды были представлены в основном куликами – чернышом, бекасом, большим улитом и фи-фи. Доля куликов в орнитокомплексах выровнялась как в нарушенных березово-сосновых лесах, так и на верховых болотах (по 4%).

В целом, водно-болотные птицы в Керженском заповеднике преобладают на участках, пострадавших от огня. В первые три года их участие относительно сходно как в населении птиц лесных массивов, так и верховых болот, нарушенных огнем (около 14–18%). С четвертого года доля этих птиц в орнитокомплексах снижается, сначала в сильно нарушенных березово-сосновых лесах, а через год – на болотах (не более 9%). В ненарушенных местообитаниях доля водно-болотных видов в гнездовой период составляет не более 5%, хотя в 2012 г. она составляла до 36%.

Исследования поддержаны грантом РФФИ (проект №11-04-97092-р_поволжье_a) и администрацией ФГБУ «Государственный заповедник «Керженский».

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ СОРТОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ

К. А. Савицкая¹, М. И. Антипенко²

¹Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева,
443011, ул. Академика Павлова, 1; 23.kristya_sav@mail.ru

²НИИ «Жигулевские сады», 443072, Самара, 18 км Московского шоссе

В ряду вторичных метаболитов растений фенольные соединения занимают особое место благодаря многообразию молекулярных структур и экологической мультифункциональности. При общем свойстве – наличии одного или более фенольных остатков, которые содержат различное количество гидроксильных и кетогрупп, кислотные радикалы и др., группа фенольных соединений растений насчитывает несколько тысяч идентифицированных веществ, которые могут выполнять разнообразные функции как хемозффекторы и хемомедиаторы. Так, их присутствие в тканях растений обеспечивает определенный уровень устойчивости к фитопатогенам, ограничивает привлекательность растительной массы для фитофагов, определенные группы фенольных производных участвуют в формировании окраски частей околоцветника и тканей плодов. Мономерные фенольные соединения используются для биосинтеза лигнина. Утилизация фенольных соединений при разрушении органических остатков, с одной стороны, связана с формированием молекул гумуса, с другой – проявляется в формировании ситуаций химического взаимодействия растений (аллелопатии). Фенольные соединения в составе растительного сырья используются человеком (природные красители, лекарственные препараты и пр.). Внутри растительной клетки водорастворимые фенольные соединения входят в состав антиоксидантной системы. Поэтому определение их содержания в листьях плодовых культур важно с позиций познания биоэкологических особенностей и оценки устойчивости сортов в местных условиях.

Образцы листьев 11 сортов земляники садовой отбирались вторым автором с июля по сентябрь в вегетационный период 2015 г. и передавались для лабораторного изучения. Содержание водорастворимых фенольных соединений проводили для водных экстрактов, приготовленных из воздушно-сухого фитоматериала, по методу Свейна-Хиллиса с использованием готового реактива Фолина-Чокальте (производство Pancreas Quimica SA, Испания). Измерение оптической плотности растворов проводили на КФК-2 при 590 нм.

Анализ данных показал, что наименьшее расхождение уровня водорастворимых фенольных соединений в листьях земляники отмечается в июле (0,65 до 0,83 мг/г). В августе и сентябре наблюдается расширение диапазона значений (от 0,55 до 0,95 мг/г). Следует отметить, что полученные данные входят в диапазон значений, характерных для плодовых растений нашей области. Предварительная оценка содержания водорастворимых фенольных соединений в листьях сортов земляники при обобщении данных июля – сентября 2015 г., показала поддержание среднего уровня значений около 0,7 при минимуме около 0,6 и максимуме – более 0,9 мг/г сухой массы. Наименьшая изменчивость уровня фенольных соединений по сортам земляники садовой внутри вегетационного периода наблюдалось у сортов Фестивальная (0,68 до 0,76 мг/г) и Кармен (0,59 до 0,69 мг/г), наибольшее – у сортов Пандора, Жанна, Звездочка и Кама. В целом значения коэффициента вариации для содержания фенольных соединений в листьях внутри вегетационного периода изменялись от 5% (сорт Фестивальная) до 21% (сорт Пандора). Таким образом, для листьев 11 сортов земляники садовой в 2015 г. мы выявили сравнительно высокое содержание водорастворимых фенольных соединений при слабой выраженности сезонной динамики показателя. Это может быть связано как с погодными условиями сезона, так и с биоэкологическими особенностями данной ягодной культуры.

ВЛИЯНИЕ ОВАРИОЭКТОМИИ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СИНАПСОВ В ПЕРЕДНЕМ КОРТИКАЛЬНОМ ЯДРЕ МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА МОЗГА КРЫС ЛИНИИ WAG/Rij

И. И. Садрtdинова

Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
indira.ildarovna@mail.ru

Известно, что эстрогены влияют на синаптогенез в тех областях центральной нервной системы, которые участвуют в регуляции репродуктивного поведения, а также в областях, которые регулируют синтез и выделение гормонов гипофизом. Установлено, что миндалевидный комплекс мозга выполняет важную роль как звено репродуктивной системы организма. Переднее кортикальное ядро является одной из основных зон полового диморфизма миндалевидного комплекса мозга. Поэтому целью исследования стало изучение количественных изменений синапсов в переднем кортикальном ядре миндалевидного комплекса мозга до и после овариоэктомии.

Работа выполнена на половозрелых самках крыс линии WAG/Rij ($n=8$). Хирургическую овариоэктомию проводили по общепринятой методике. Для проведения электронно-микроскопических исследований материал фиксировали путем погружения в охлажденный 2,5%-ный глутаральдегид на какодилатном буферном растворе и постфиксировали в 2%-ном растворе OsO_4 на том же буфере, обезвоживали в этаноле восходящей концентрации и заливали в эпон-812. Ультратонкие срезы изучали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011CX II (Япония). В результате исследования в переднем кортикальном ядре нами выявлены аксосоматические, аксо-дендритные, аксо-шипииковые, дендро-дендритные и аксо-аксональные синапсы. Чаще всего мы встречали аксо-дендритные синапсы, которые располагались на основных стволах дендритов. В основном определялись дендриты крупных размеров со светлой цитоплазмой. Аксосоматические синапсы занимали от общей популяции синапсов в контрольной группе – 6,7%, после овариоэктомии их стало меньше. Аксо-аксональные синапсы встречались редко. Доля дендродендритных синапсов составила в группе контроль – 6,7%, после овариоэктомии – 20,4% от общей численности синапсов в группах. По действию на иннервируемую клетку у крыс контрольной группы выявлено 33,3% симметричных (тормозных) синапсов, 66,7% асимметричных (возбуждающих) синапсов. У овариоэктомированных животных зарегистрировано 48% и 52%, соответственно. Анализ кривизны плоскости синаптического контакта показал, что в контрольной группе синапсы с отсутствием кривизны постсинаптической мембраны составили – 55,3%, с выпуклой постсинаптической мембраной – 28% и вогнутой – 16,7%. У овариоэктомированных крыс на долю синапсов с отсутствием кривизны постсинаптической мембраны приходилось 69,1%, с изменением кривизны постсинаптической мембраны – 30,9%. Кроме того, в контрольной группе определялись сложные синаптические комплексы дивергентного и конвергентного типов, что свидетельствовало об активном функциональном состоянии контактов.

Таким образом, количественный анализ синапсов в переднем кортикальном ядре миндалевидного комплекса мозга крыс линии WAG/Rij показал, что овариоэктомия приводила к изменению количества синапсов внутри исследуемой нами группы, а также к снижению общего количества синапсов по сравнению с контрольной группой.

ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В ДИНАМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Н. Б. Сапунова, Е. В. Лияськина, В. В. Ревин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва,
430032, Саранск, ул. Ульянова, 26б; *n.sapunowa2016@yandex.ru*

Целлюлоза является наиболее распространенным органическим полимером на Земле. Преимущественно целлюлозу получают из растений, где она является главным структурным элементом клеточных стенок. Однако помимо растений целлюлозу способны синтезировать некоторые животные, водоросли и микроорганизмы. Особое внимание исследователей привлекает бактериальная целлюлоза (БЦ), которая обладает уникальными свойствами и проявляет два, казалось бы, несовместимых качества – тончайшую пористость и механическую прочность. Она превосходит свой аналог растительного происхождения по чистоте, степени кристалличности, наноструктуре, высокой степени полимеризации. Благодаря своим свойствам БЦ является перспективным материалом для промышленности и техники, открывая новые горизонты для нанотехнологии. Получение БЦ осуществляется в статических и динамических условиях. Способ культивирования продуцента существенно влияет на синтез целлюлозы. В статических условиях выращивания бактерии образуют целлюлозу в виде пленки на поверхности среды. В динамических условиях большинство штаммов образуют целлюлозу в виде агломератов различной формы и размеров. Некоторые источники утверждают, что при статических условиях культивирования образование БЦ идет более эффективно, так как интенсивное перемешивание и аэрация являются стрессовым фактором для бактерий и отрицательно влияют на биосинтез полисахарида. Однако, согласно другим данным, динамические условия способствуют большему образованию БЦ. Это связано с увеличением площади поверхности среды, соприкасающейся с воздухом, и как следствие усилением аэрации клеток. Кроме того, динамические условия являются более предпочтительными для промышленного получения БЦ. Для производства полисахарида в динамических условиях можно использовать различные типы биореакторов. При использовании биореакторов с механическим перемешиванием одновременно с агломератами небольших размеров происходит образование крупных частиц и пленок на поверхности среды и металлических конструкциях внутри биореактора. Также было установлено, что крупные агломераты могут образовываться при культивировании бактерий в колбах на качалке, что затрудняет процесс пересева инокулята и отбор проб. Поэтому были проведены исследования, направленные на уменьшение размеров агломератов БЦ, путем внесения в питательную среду различных добавок, в частности, микрокристаллической целлюлозы и стеклянных бусин. Культивирование бактерий осуществляли в шейкерах-инкубаторах ES-20/60 (BIOSAN, Латвия) и биореакторах BIOSTAT A plus объемом 1 л и BIOSTAT B plus объемом 5 л (Sartorius, Германия) на стандартной среде NS. Объектом исследования являлся продуцент БЦ *Gluconacetobacter sucrofermentans* (штамм В-11267), выделенный на кафедре биотехнологии МГУ им. Н.П. Огарёва. Согласно полученным данным, добавление стеклянных бусин в среду культивирования бактерий приводило к уменьшению размеров агломератов БЦ по сравнению с контролем и увеличению выхода продукта на 1 и 2 сутки культивирования. Культуральная жидкость представляла собой относительно однородную суспензию хлопьевидных агломератов полисахарида.

Работа выполнена при финансовой поддержке министерства образования и науки Российской Федерации в рамках базовой части госзадания, проект 2913 «Исследование условий получения новых продуктов и материалов из бактериальной целлюлозы».

ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ОТСЛЕЖИВАНИЯ СФОРМИРОВАННОСТИ БИОЭТИЧЕСКОЙ КОМПЕТЕНЦИИ

Э. В. Свербина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sverbina95@mail.ru

Согласно федеральному государственному образовательному стандарту нового поколения в качестве результата образования следует считать сформированность компетенций. В нашей проблематике – биоэтической компетенции. Компетенция – совокупность взаимосвязанных базовых качеств личности, включающее в себя применение знаний, умений и навыков в качественно-продуктивной деятельности. Общепрофессиональная компетенция по биоэтике ОПК-12 в соответствующих документах сформулирована следующим образом: «Способность использовать знание основ и принципов биоэтики в профессиональной и социальной деятельности». Целью исследования является разработка фонда оценочных средств для отслеживания сформированности биоэтической компетенции.

Биоэтическая компетенция представлена несколькими компонентами: мотивационно-ценностным, когнитивным, операционно-действенным и деятельностным. Для отслеживания сформированности биоэтической компетенции необходимо разработать подходы к отбору оценочных средств. В настоящее время в российской системе высшего профессионального образования усилиями многих исследователей создается фонд оценочных средств (ФОС) для выявления уровня сформированности различных компетенций на разных этапах подготовки студентов. Педагогические тесты позволяют отслеживать сформированность знаний. Элементами теста являются тестовые задания (ТЗ).

Для проверки знаний по курсу «Введение в биоэтику» в нашем исследовании был использован полиморфный тест, представленный в двух вариантах и включающий в себя 25 ТЗ нескольких типов. Для отслеживания интенсивности отношения к биообъектам и знаниям по биоэтике, а также сформированности когнитивной, мотивационно-ценностной, операционно-действенной и деятельностной составляющих биоэтической компетенции на основе личностного отношения обучающихся к получению знания биологического характера и знаний по биоэтике мы воспользовались структурой опросника «Натурфил», предназначенного для отслеживания интенсивности отношения к природным объектам.

Интенсивность отношения к сформированности исследуемой компетенции может проявляться в разной степени. В связи с этим студенты были разделены на 3 группы: с низкой, средней и высокой интенсивностью отношения. Все вопросы в опроснике разделяются на необходимые для отслеживания блоки по 10 вопросов в каждом. Каждый блок предназначен для оценки интенсивности определенной составляющей всего отношения.

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА

К. А. Свержова

Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
sverzhova.karina@yandex.ru

Наночастицы (НЧ) диоксида титана (TiO_2) производятся в больших масштабах и широко применяются в различных отраслях промышленности и медицины. В медицине НЧ TiO_2 используются как носители лекарств, а нанотрубки с НЧ TiO_2 применяют в качестве датчиков и наносенсоров глюкозы, O_2 , H_2O_2 , влажности и т.д. Однако ряд исследователей отмечают недостаточную доказанность безопасности их применения в медицине. Основные пути поступления НЧ TiO_2 в организм человека и животных – это ингаляционный, пероральный и перкутанный. Основными органами мишенями являются ткани дыхательной, интестинальной, иммунной, кожной систем, а критичными по последствиям их действия – головной мозг, костный мозг, репродуктивные и выделительные органы. Цель настоящего исследования – изучение влияния интраназального введения НЧ TiO_2 на структурные особенности нейронов с помощью электронной микроскопии.

Работа выполнена на самках нелинейных белых крыс массой 200–250 г ($n=6$). Всех животных содержали в одинаковых условиях вивария на стандартном сбалансированном рационе. Проведено интраназальное вдвухание НЧ TiO_2 размером 40–60 нм в концентрации 50 мг/кг в течение 30 дней. Для проведения электронномикроскопических исследований мозг животных фиксировали путем погружения в охлажденный 2,5%-ный глутаральдегид на фосфатном буферном растворе ($pH=7,4$) и постфиксировали в 2%-ном растворе OsO_4 , обезвоживали в этаноле и заливали в Эпон-812. Готовили ультратонкие срезы и анализировали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM 200EX (75 кВ). Для определения транслокации НЧ TiO_2 мозг исследовали на 14-й и 30-й день эксперимента.

Результаты проведенного исследования показали, что через 14 дней воздействия НЧ TiO_2 обнаруживаются в обонятельной луковице, амигдале и гиппокампе. Наибольшее накопление НЧ произошло в гиппокампе в течение 30 дней. В этой структуре отмечалась и большая выраженность нейродегенеративных изменений. Было подтверждено, что НЧ TiO_2 при вдыхании мигрируют из обонятельной луковицы в различные структуры мозга и поражают их. Показано, что функции нейронов в гиппокампе при этом страдают больше.

ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАНОДИСПЕРСНОГО ДИОКСИДА ТИТАНА

К. А. Сверхова, А. Юсупов

Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
sverzhova.karina@yandex.ru

Цель настоящей работы – исследование возможных эмбриотоксических свойств нанодисперсного диоксида титана при пероральном поступлении. Объектом исследования послужили беременные крысы линии Wistar и Wag/Rij массой 170–210 г. В течение двух эстральных циклов просматривали вагинальные мазки. Отмечали стадии проэструс, эструс, диэструс и метаэструс. Беременные самки крыс были разделены на 4 группы: 2 опытных группы по 6 самок из каждой линии и 2 контрольные группы по 6 животных при свободном доступе к воде и пище и постоянном свето-темновом режиме. Животным опытной группы перорально вводили наночастицы (НЧ) диоксида титана (TiO_2) ежедневно с 1-го по 19-й день беременности из расчета 100 мг на 1 кг массы животного. Эмбриолетальное действие НЧ диоксида титана (TiO_2) устанавливали по увеличению общей, пред- и постимплантационной смертности эмбрионов. Математико-статистическую обработку данных проводили с использованием лицензионного пакета прикладных программ «STATISTICA» v.7.0 (StatSoft Inc., США).

На момент вскрытия все плоды во всех группах были живы. Продолжительность беременности, количество живых плодов, масса их тела и кранио-каудальный размер, количество желтых тел, мест имплантации, при ежедневном пероральном введении нанодисперсного диоксида титана (TiO_2) не отличались от соответствующих показателей у животных контрольной группы. При вскрытии самок было обнаружено, что все плоды были развиты соответственно сроку беременности. Количество желтых тел, мест имплантации, среднее число эмбрионов на одну самку в опытных группах, средняя масса плода не отличались от контрольной группы. Однако, основные показатели – предимплантационная гибель зигот в подопытных группах, общая эмбриональная смертность были выше в опытных группах по сравнению с контрольными группами. Причем более существенные сдвиги отмечены в группе крыс линии Wag/Rij. Так, общая предимплантационная смертность в группе линии Wag/Rij выросла на 7,47%, тогда как в группе Wistar на 3,82%, эмбриональная смертность на 6% и 4% соответственно. При анатомическом исследовании эмбриона, установлено, что исключительно среди эмбрионов опытных групп встречаются случаи кровоизлияния и гематом. Таким образом, нанодиоксид титана возможно оказывает эмбриотоксическое действие.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЗЕМНОВОДНЫХ И ПРЕСМЫКАЮЩИХСЯ В РЕСПУБЛИКЕ МАРИЙ ЭЛ

А. О. Свинин¹, В. И. Гаранин²

¹Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
ranaesc@gmail.com

На территории Республики Марий Эл выявлено 12 видов амфибий и 6 видов рептилий. Всего обследовано 88 локалитетов, находящихся в 12 административных районах.

Батрахофауна республики представлена сибирским углозубом (*Salamandrella keyserlingii*), обыкновенным тритоном (*Lissotriton vulgaris*), гребенчатым тритоном (*Triturus cristatus*), краснобрюхой жерлянкой (*Bombina bombina*), чесночницей Палласа (*Pelobates vespertinus*), зеленой жабой (*Bufoles viridis*), серой жабой (*Bufo bufo*), озерной лягушкой (*Pelophylax ridibundus*), прудовой лягушкой (*P. lessonae*), съедобной лягушкой (*P. esculentus*), травяной лягушкой (*Rana temporaria*), остромордой лягушкой (*R. arvalis*).

Герпетофауна Марий Эл представлена веретеницей ломкой (*Anguis fragilis*), живородящей ящерицей (*Zootoca vivipara*), прыткой ящерицей (*Lacerta agilis*), обыкновенным ужом (*Natrix natrix*), обыкновенной медянкой (*Coronella austriaca*) и обыкновенной гадюкой (*Vipera berus*).

Особого рассмотрения требует таксономический статус съедобной лягушки. Данный таксон является результатом гибридизации озерной и прудовой лягушек и размножается полуклонально, образуя с родительскими видами смешанные популяционные системы (нами отмечены системы R-, L-, R-L-, L-E-, R-E-L-типов). Существует несколько гипотез о происхождении съедобной лягушки в Волжском бассейне, от которых зависит систематическое положение данной формы и ее охранный статус (происхождение на местах «de novo» или длительные по времени клональные линии). В настоящее время она нередко рассматривается в рамках вида, а иногда в рамках особого таксона – «клептона».

Наиболее редким видом амфибий в Марий Эл является сибирский углозуб, встреченный в 1988 г. Х. Ф. Балдаевым. Однако позднее в указанных в литературе местообитаниях (д. Малые Люльпаны, п. Шушер, п. Старожильск) данный вид не регистрировался. Сравнительно редко встречается краснобрюхая жерлянка, которая находится здесь на северо-восточном пределе распространения. В начале XX века отмечено ее обитание в Йошкар-Оле, где в настоящее время она не найдена. Наиболее редкий вид рептилий – обыкновенная медянка, встречающаяся по территории республики спорадически.

На основе полученных результатов по распространению можно выделить три крупных герпетокомплекса, границы которых совпадают с выделенными ранее ботанико-географическими районами (по Н. В. Абрамову): 1) юго-западный, включающий Правобережную часть республики; 2) центральный, включающий Марийскую низменность, Оршанско-Кокшагскую равнину и юго-восток Марийско-Вятского увала; 3) северо-восточный, к которому относится северо-восток Марийско-Вятского увала.

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПАТОЛОГИЯМИ СУСТАВОВ

А. А. Семенова, Т. С. Виногорова, Г. П. Дробот

Марийский государственный университет», 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
sem_al.ru@mail.ru

В последние десятилетия в связи с увеличением средней продолжительности жизни болезни костно-мышечного аппарата приобрели большую актуальность и стали важной проблемой для органов здравоохранения и социальной защиты. Биохимический анализ крови может оказать существенную помощь врачу при проведении дифференциальной диагностики поражений суставов. При ревматических болезнях (артритах) в крови значительно повышается уровень так называемых маркеров воспаления: С-реактивного белка (СРБ), серомукоида, некоторых глобулинов и иммуноглобулинов. При артрозах эти биохимические показатели остаются в норме. Это помогает произвести четкое разграничение между воспалительными и обменно-дистрофическими заболеваниями суставов.

Исследовалась сыворотка крови больных артритом и артрозом. Всего было обследовано 150 пациентов Республиканского клинического госпиталя ветеранов войн (Йошкар-Ола) в возрасте до 89 лет, которые были разделены на 4 группы: молодой возраст (до 45 лет), средний возраст (45–59 лет), пожилой возраст (60–74 года) и старческий возраст (75–89 лет). В ходе исследования проводили определение показателей белкового и углеводного обмена: содержание глюкозы, концентрации общего белка, белковых фракций, С-реактивного белка.

Анализ уровня глюкозы показал, что ее содержание не зависит от пола и возраста больных и соответствует границам референсного интервала. Содержание С-реактивного белка в сыворотке крови у обследуемых больных всех четырех возрастных групп не различается. При анализе протеинограммы было установлено, что концентрация общего белка у обследованных больных уменьшается с возрастом, но остается на уровне границ физиологической нормы. У больных артритом в старческом возрасте (75–89 лет) уменьшается концентрация альбуминов, но возрастает содержание α_1 -глобулинов. Величины этих показателей отклоняются от значений референсного интервала в сторону повышения, что свидетельствует о наличии воспалительного процесса в организме у этих больных. Содержание α_2 -глобулинов у обследованного больного артрита не зависит от возраста у мужчин, а у женщин 75–89 лет превышает физиологическую норму, что свидетельствует о наличии у них воспалительных процессов. Содержание фракций β - и γ -глобулинов не зависит от пола и возраста и соответствует границам референсного интервала.

У обследованного контингента больных выявлены пациенты с отклонениями в протеинограмме, частоты которых увеличиваются с возрастом: с 50% до 100% при артрите и с 5% до 51,9% при артрозе. При артрите процент таких больных выше, чем при артрозе во всех возрастных группах. Установленные отклонения величин показателей протеинограммы свидетельствуют о наличии у этих больных дисбаланса белкового обмена.

АНАЛИЗ РОЛИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА КАК ХИМИЧЕСКОГО СИГНАЛА, ИНДУЦИРУЮЩЕГО ВАРИАБЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

М. М. Семина, Е. Н. Морозова, А. В. Бушуева, О. Г. Лесникова, В. А. Воденев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

mutoxohdpuya@yandex.ru

В жизни растения, как неподвижного организма, очень важны сигналы, распространяющиеся на дальние расстояния и координирующие ответы в разных клетках. К таким межклеточным сигналам можно отнести переменный потенциал (ВП), который возникает в ответ на повреждающее воздействие. ВП – это локальный электрический ответ, индуцированный распространением сигнала химической или гидравлической природы. Химическая гипотеза предполагает наличие вещества, способного к быстрому распространению и индукции электрического ответа. Таким критериям отвечает пероксид водорода, поэтому он может быть рассмотрен в качестве кандидата на роль химического агента. В данной работе проведен анализ роли этого соединения как индуктора ВП.

Исследование проводилось на двухнедельных проростках гороха, выращенных в климатической камере. ВП индуцировали ожогом кончика листа. Запись электрической активности осуществлялась методом внеклеточной регистрации. После раздражения через определенный промежуток времени проросток гороха фиксировали жидким азотом, стебель разделяли на фрагменты, взвешивали каждый, гомогенизировали в трихлоруксусной кислоте, а затем определяли содержание пероксида водорода флуориметрическим методом с помощью зонда AmplifluRed.

В ходе экспериментов выяснено, что ожог листа вызывает в проростках гороха распространение ВП, амплитуда и скорость которого затухают по мере увеличения расстояния от зоны локального повреждения.

Результаты экспериментов по изучению распределения пероксида водорода в стебле проростков гороха показали, что содержание H_2O_2 в неповрежденных растениях снижается в базипетальном направлении. После ожога происходит изменение содержания H_2O_2 в неповрежденных частях проростка таким образом, что на расстоянии 3–6 см от зоны раздражения через 50 сек. концентрация H_2O_2 значительно превышает контрольную, через 100 и 150 сек. превышение содержания H_2O_2 происходит на участке 6–9 см, на расстоянии 9–12 см наблюдается невыраженная тенденция к изменению концентрации H_2O_2 .

Для анализа возможной роли пероксида водорода в качестве индуктора ВП проводили обработку проростков гороха раствором H_2O_2 , который вызывает в них изменение мембранного потенциала (переходную деполяризацию, по форме схожую с ВП). Для исследования механизмов повышения его содержания в удаленных от зоны раздражения частях растения проводили оценку влияния снижения локальной концентрации H_2O_2 с помощью каталазы и DPI (ингибитора NADH-оксидазы). Наличие данных соединений в растворе, омывающем участок стебля, приводит к изменению параметров ВП. Снижение амплитуды реакции свидетельствует о необходимости повышения концентрации H_2O_2 для распространения ВП. Вероятно, механизм повышения содержания H_2O_2 связан с активацией NADH-оксидазы плазматических мембран.

***LILIUM MARTAGON* (LILIACEAE) – ВИД КРАСНОЙ КНИГИ
РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ**

***М. А. Сенчугова*², *А. А. Ханугин*^{1, 2}, *Г. Г. Чузунов*¹⁻³**

¹Мордовский государственный природный заповедник им. П.Г. Смидовича, 431230,
Республика Мордовия, Темниковский район, пос. Пушта; *hapugin88@yandex.ru*

²Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, 430005, Республика Мордовия,
Саранск, ул. Большевикская, 68; *mariya.senchugova@mail.ru*

³Национальный парк «Смольный», 431660, Республика Мордовия, Ичалковский район, пос.
Смольный, ул. Тополей, 11; *gennadiy-fl@yandex.ru*

Лилия саранка (*Lilium martagon*) – многолетнее луковичное растение высотой 60–120 см. Нижние листья в мутовках по 5–6, расположенные выше – очередные. Светло-пурпурные пятнистые цветки собраны в кисть по 5–10. Плод – шестигранная коробочка длиной до 4 см.

Ареал этого неморально-лесостепного вида охватывает Европу, Средиземноморье, север Монголии и Сибирь. В Республике Мордовия редкий вид известен в 13 районах (Ардатовский, Атяшевский, Большеберезниковский, Дубенский, Инсарский, Кадошкинский, Кочкуровский, Лямбирский, Ромодановский, Рузаевский, Старошайговский, Чамзинский и окрестности Саранска) в восточной части региона.

Первая находка на современной территории Мордовии была сделана в 1934 г. в 8 км от города Ардатова на горе Питерка. Следующая находка лилии саранки в регионе была сделана лишь через 55 лет – в 1989 г. С 1990 г. активизировались ботанические исследования на территории Мордовии, направленные на создание региональной Красной книги. К моменту ее опубликования в 2003 г. в Республике Мордовия было известно 16 местонахождений лилии саранки.

После выхода Красной книги Республики Мордовия в регионе активизировались мероприятия по ее ведению. В результате этих ботанических исследований с 2004 по 2015 гг. было выявлено еще 17 местонахождений лилии саранки, что составляет 51,5% от общего числа находок, известных в Мордовии. Это свидетельствует о высокой значимости региональной Красной книги в изучении распространения редких видов в Республике Мордовия.

В настоящее время подготовлено к опубликованию второе издание Красной книги Республики Мордовия, куда также включена лилия саранка. Можно предположить, что это послужит новым толчком для интенсификации ботанических исследований редких видов в регионе. В отношении лилии саранки можно предположить, что этот вид будет впервые обнаружен в Ичалковском и Большеигнатовском районах, где имеются подходящие для него местообитания, возможны находки и в других административных районах на востоке Мордовии.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ
КРЫС С ПЕРЕВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ ШТАММА РС-1 ПРИ ТЕРАПИИ
НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМ ПРЕПАРАТОМ «ХИТОЗАН – ПЧЕЛИНЫЙ ЯД –
НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА»**

Т. П. Сергеева, А. И. Стародумова, О. С. Наумова

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

Структурно-биохимические перестройки эритроцитов при злокачественных новообразованиях определяют течение патологического процесса и, по всей видимости, могут иметь диагностическое значение. Одним из механизмов, приводящих к нарушению структуры и, как следствие, функции гемцитов является активация свободно-радикального окисления в клетках, обусловленная системным воздействием опухоли на организм. В связи с этим, цель представленной работы – исследование интенсивности свободно-радикального окисления и акустических параметров эритроцитов крыс с перевитой опухолью штамма РС-1 до и после терапии наноструктурированным препаратом «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота».

Работа выполнена на белых нелинейных крысах самках массой 150–200 г. Перевивка опухоли штамма РС-1 осуществлялась подкожно в паховую область. Животные были разделены на 4 группы: интактные (относительная норма); контроль 1 (животные-опухоленосители без лечения со сроками развития опухоли 3, 5 и 7 недель); контроль 2 (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – наночастицы золота»); опытная группа (животные-опухоленосители, которым вводили препарат «хитозан – пчелиный яд – наночастицы золота»). Терапию начинали на 14-е сутки после перевивки опухоли. Препараты вводили по периферии новообразования путем пятикратного обкалывания с периодичностью 1 раз в течение 48 часов. Забор крови производился из подъязычной вены на 1-е (3 недели роста опухоли), 14-е (5 недель) и 28-е (7 недель) сутки после окончания курсового введения препарата. Полученный биологический материал использовали для определения активности свободнорадикального окисления в гемолизате эритроцитов методом индуцированной биофлуоресценции и акустического анализа структуры эритроцитов.

В эритроцитах крыс до лечения через 3 недели после перевивки опухоли уровень свободно-радикального окисления не отличался от такового у интактных, через 5 недель онкогенеза в эритроцитах крыс с опухолью наблюдали стимуляцию работы антиоксидантной системы защиты эритроцитов по сравнению с интактными. Однако на поздних стадиях онкогенеза в эритроцитах крыс показано смещение баланса свободно-радикального окисления в сторону ингибирования антиоксидантной защиты, что сопровождалось тенденцией к повышению упругости эритроцитов. На 1-е и 14-е сутки после курсового введения препарата с пчелиным ядом уровень свободно-радикального окисления в эритроцитах крыс не изменялся по сравнению с таковым до лечения, на 28-е сутки отмечали нормализацию процесса, однако сохранялась тенденция к повышению упругости эритроцитов.

Таким образом, не обнаружено зависимости акустических параметров эритроцитов крыс опухоленосителей до и после лечения от уровня свободно-радикального окисления в клетках.

ОЦЕНКА АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ И ЕГО СНИЖЕНИЕ В УСЛОВИЯХ ГОРОДА САМАРЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

В. Б. Сердюк, В. А. Васильев, А. В. Васильев, В. В. Заболотских

Самарский государственный технический университет, 443100, Самара,
ул. Молодогвардейская, 244; rector@samgtu.ru

Степень загрязнения воздуха в Самарской области остается очень высокой, в атмосферу выбрасывается 600 тыс. т. вредных веществ. Основными источниками загрязнения атмосферного воздуха являются 650 промышленных предприятий энергетики, химической и нефтехимической промышленности, машиностроения, а также около 3 тыс. автотранспортных предприятий. Основные загрязнители воздуха среди промышленных предприятий – это ОАО «КНПЗ», ОАО «ЗПОН», ОАО «Металлист-Самара». В Самаре показатель загрязнённости воздуха взвешенными веществами выше на 43% среднего по России.

Увеличение химического и физического загрязнения окружающей среды приводит к ухудшению экологической обстановки в городе. Реализуемый сегодня экологический мониторинг окружающей среды урбанизированных территорий включает в основном анализ отдельных поллютантов, но не учитывает их токсического воздействия и интегрированного влияния. Для обеспечения экологической безопасности городской среды и населения необходимо проводить исследования интегрированного антропогенного воздействия химических и физических факторов на человека и природные сообщества. И здесь без биологических методов не обойтись.

Для объективной оценки антропогенной нагрузки на человека и природные сообщества в условиях города Самары и разработки адекватных мероприятий по её снижению необходимо совершенствовать систему мониторинга на основе применения методов биоиндикации.

На основе использования методов биологического мониторинга была проведена интегральная оценка качества окружающей среды Самары. Качество воздушной среды определялось по состоянию биоиндикаторов – хвойных растений, по флуктуирующей асимметрии листьев, по степени повреждения листьев.

Интегральная оценка качества воздушной среды Самары на основе применения комплекса биологических методов показала, что наиболее неблагоприятными участками в городе с повышенной токсичностью являются места вблизи их источников – автодорог, химических предприятий.

Для снижения антропогенной нагрузки в Самаре разработан и предложен комплекс мероприятий, включающий создание защитных лесополос вдоль магистралей, разработку заградительных шумо- и пылеулавливающих экранов, благоустройство и озеленение парковых зон, восстановление и реконструкцию лесных массивов, разработку нового покрытия для дорог на основе использования резинотехнических отходов.

МАГНИТНОЕ ПОЛЕ – ВЕРОЯТНЫЙ ПРЕАДАПТИРУЮЩИЙ ФАКТОР ДЛЯ РАСТЕНИЙ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM*)

Я. В. Середнева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
seredneva.yana@mail.ru

Объектом исследования служили растения гороха *Pisum sativum*, сорта «Альбумен», выращенные в климатической камере +23°C и 16-часовом световом периоде. Для генерации импульсного магнитного поля (МП) использовалась магнитотерапевтическая VL-2 установка (1,5 мТл, 15 Гц). Гипертермию (ГТ) для каждого из параметров подбирали так, чтобы она максимально влияла на показатели, не будучи летальной для организма. Контролем служили растения, выдержанные в условиях нормального геомагнитного поля при температуре +23°C. МП само по себе не влияло на длину надземной части растений гороха. Рост надземной части замедлялся под воздействием ГТ (30 мин) на 88,5%. Предварительная обработка МП снижала негативное влияние ГТ. Замедление роста растений под воздействием ГТ может быть связано с увеличением синтеза активных форм кислорода, таких как органические и неорганические гидроперекиси.

Получасовая обработка переменным МП снижала содержание гидроперекисей (ГП) на 16,6%, двухчасовая – на 22,7%. ГТ увеличивала содержание ГП на 25,6% при 30-мин. и на 39,6% при 15-мин. обработке по сравнению с контролем. Следующая за ГТ обработка МП не приводила к существенному снижению количества гидроперекисей. При предваряющем ГТ воздействии МП накопления гидроперекисей также не происходило, но наблюдалось их снижение на 12,1%.

Каталаза является идицибельным ферментом, разлагающим пероксид водорода. Воздействие переменного МП приводило к снижению активности каталазы от 6 до 33%, достоверные различия опыта и контроля были замечены при 15 и 30 мин воздействия. После 2-часового воздействия переменным МП мы не обнаружили значимого снижения активности фермента. 30-мин. ГТ приводила к повышению активности каталазы на 32%. Предваряющая ГТ обработка переменным МП приводила к снижению активности каталазы на 20%, что сравнимо с обработкой одним переменным МП.

Изменения про/антиоксидантного равновесия клетки могут повлечь за собой также изменения в процессах, происходящих на клеточных мембранах, в частности, в фотосинтезе. Изменение скорости реакции Хилла показывает наличие быстрых перестроек в работе воодокисляющего комплекса. МП не вызывало существенных изменений скорости реакции Хилла. ГТ приводила к снижению скорости реакции Хилла. Предварительная обработка растений МП в течение 30 мин и 2 часов перед воздействием ГТ давала некоторую тенденцию к повышению скорости реакции Хилла, но полного ее возвращения к норме не происходило.

Негативные факторы внешней среды могут приводить к снижению количества каротиноидов. МП не влияло на количество каротиноидов. ГТ снижала количество каротиноидов на 24,5%. Предварительная обработка переменным МП снимала данный эффект ГТ.

Анализируя полученные результаты, можно предположить, что предварительная обработка растений МП может вызывать защитный ответ на действие негативных факторов внешней среды. Возможно, причина данного явления заключается в наличии единых механизмов восприятия различных физических факторов. Магнитные поля низкой интенсивности оказывают небольшое раздражающее действие на живые организмы, не являясь при этом стрессовым фактором, что может обуславливать их положительное преадаптационное влияние по отношению к негативным факторам окружающей среды.

МГНОВЕННЫЕ МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫЕ СОБЫТИЯ НА ПРИМЕРЕ СМЕНЫ ПРОМОТОРА ВЫСОКО КОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА DRAS1

Е. А. Сивопляс¹, Н. М. Кутузова¹, А. М. Куликов²

¹Московский педагогический государственный университет, 119991, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1, стр. 1; sivoplyas-ekater@mail.ru

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26

Принято считать, что большинство мутаций нейтральны и их накопление протекает постепенно. Однако нами показано, что возможны кардинальные изменения регуляторной области гена, произошедшие в очень короткие сроки. Исследуемый нами ген *Dras1* кодирует белок *Ras1*, который относится к семейству ферментов (малых ГТФаз), участвующих в клеточном делении. Ген *Dras1* является универсальным переключателем от рецепторов к транскрипционным факторам, это самый известный протонкоген. Высоко консервативный ген *Dras1* экспрессируется у всех эукариот от дрожжей до человека. Аминокислотная последовательность также консервативна. В эксперименте использованы 11 близкородственных видов группы *Drosophila virilis* из коллекции Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Показана полная смена промоторной области гена *Dras1* у дрозофил группы *virilis* по сравнению с *D. melanogaster*. На ранних этапах эволюции в ходе дивергенции видов подродов *Drosophila* и *Sophophora* от общего предка изменения промоторной области данного гена были вызваны инсерцией мобильного элемента подкласса *Tc1/mariner* класса II ДНК-транспозонов и сопровождающей эту инсерцию инверсионной перестройкой хромосомы. Дивергенция общего предка видов *D. littoralis*, *D. ezoana* и *D. kanekoï* сопровождалась инсерцией мобильного элемента *Helitron* в центральную часть предпромоторной области. Важно отметить, что глобальная перестройка области промотора гена *Dras1* неизбежно сопряжена с возникновением летального аллеля, не способного поддерживать ткане- и возрастоспецифичную экспрессию данного гена. Соответственно, формирование функционально активного промотора должно осуществляться в течение считанных поколений, пока данный летальный аллель не вытеснен из популяции.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол_а.

УТИЛИЗАЦИЯ ЭКЗОГЕННОЙ ГЛЮКОЗЫ НА СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА ЯЧМЕНЯ

О. С. Синенко

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19; olga_sinenko@list.ru

Синтез, накопление, перераспределение и утилизация углеводов в растении изменяется в зависимости от фазы развития, и выражается в изменении донорно-акцепторных связей. Включение радиоактивной метки из ^{14}C -глюкозы в разные вещества в органах растения позволяет оценить физиологическую составляющую акцепторной силы. Изучение распределения радиоактивной метки позволяет сделать выводы о том, как меняется роль отдельных органов в донорно-акцепторной системе растительного организма в ходе онтогенеза.

Растения ячменя *Hordeum vulgare* сорта «Варде» выращивали в открытом грунте мелкоделяночным способом. Изучали утилизацию экзогенной ^{14}C -глюкозы главным побегом ячменя на разных стадиях развития. Растения в разные фазы онтогенеза (от трубкования до восковой спелости зерновок), срезали и помещали основанием в сосуд с раствором ^{14}C -глюкозы. Побеги экспонировали в растворе до полного его поглощения (pulse-период), после чего оставляли в воде (chase-период) на 6, 12 и 24 часа. По окончанию chase-периода растения каждой группы фиксировали и разделяли на органы.

На стадии трубкования меченый углерод экзогенной глюкозы активно включался во все органы растения. Значительная доля метки включалась в нижние узлы и междоузлия, преимущественно в спирторастворимые соединения и крахмал, вероятно, играющий роль транзитного запаса в условиях интенсивного фотосинтеза листьев и избытка ассимилятов.

На стадии набухания листовых влагалищ происходило включение экзогенной глюкозы в структурные полисахариды двух верхних междоузлий и формирующиеся элементы колоса.

На стадии колошения метка обнаруживалась преимущественно в спирторастворимой и крахмальной фракции структурных элементов колоса. В то же время, включение метки в структурные полисахариды было заметно меньше, чем на предыдущей стадии. После стадии колошения не наблюдали включение метки в структурные полисахариды соломины было незначительным.

На стадии молочной спелости зерновок наблюдали второй пик в скорости роста нижних междоузлий соломины, в которых увеличивается содержание структурных полисахаридов (целлюлозы и гемицеллюлоз) и запасных полисахаридов – фруктанов. Кроме того, максимальной была скорость роста и накопление крахмала и структурных полисахаридов в структурных элементах колоса. В зерновках происходило интенсивное включение метки во все фракции углеводов.

В фазу восковой спелости в соломине, особенно в нижних ее междоузлиях, продолжало уменьшаться количество меченых фруктанов и структурных полисахаридов. Большая часть радиоактивной метки в соломине и структурных элементах колоса обнаруживалась во фракции свободных сахаров. Происходило также накопление метки во всех полимерных фракциях углеводов зерновок.

Изучение распределения ^{14}C -глюкозы и ее метаболизации в соломине и колосе на разных стадиях развития растения ячменя позволяет сделать вывод о том, что во временном депонировании веществ участвуют преимущественно нижние междоузлия стебля и структурные элементы колоса. Это позволяет предположить, что роль вторичной мобилизации веществ из этих органов может иметь место, а их метаболиты могут участвовать в наливе и созревании зерновок в поздние фазы онтогенеза, когда фотосинтетическая активность листьев не велика.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ ПОЛУВОДНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В КЕРЖЕНСКОМ ЗАПОВЕДНИКЕ

В. Г. Сироткин

Мининский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 7;
sirotkin-vladimir@inbox.ru

Среди млекопитающих лесной зоны Европы, оказывающих значительное влияние на ход естественных процессов в природных экосистемах, бобр занимает особое место. Мониторинг состояния вида и его эдификаторной роли позволяет понять ход сукцессионных процессов в лесных и пойменных экосистемах. Бассейн р. Керженец имеет важное значение в сохранении и восстановлении бобра в регионе: здесь в XIX веке отмечались последние бобры, а в XX веке в пойме Керженца была осуществлена реакклиматизация вида под руководством профессора И.И. Пузанова. Поэтому мониторинг бобровых поселений, безусловно, должен быть в числе приоритетных задач ГПБЗ «Керженский».

Однако в первое десятилетие существования заповедника собирались лишь фрагментарные данные о численности бобра. Систематические учеты по общепринятой методике (Дьяков, 1975), охватывающие большую часть заповедной территории, были проведены только в 2005–2011 гг. Поэтому продолжение многолетнего ряда данных, особенно в условиях значительной трансформации заповедной территории пожарами 2010 г., стало важной научной задачей, которая решается нами в составе исследовательской группы под руководством к.б.н. С.В. Бакки. Цель работы – оценка распределения и численности бобра на территории Керженского заповедника и разработка рекомендаций по дальнейшему мониторингу вида. В ходе учетов бобровых поселений попутно проводился учет ондатры.

Осенью 2015 г. в Керженском заповеднике по общепринятым методикам были проведены учеты полуводных млекопитающих, которыми охвачено 170 км (59%) длины водоемов. Учтено 81 поселение бобров. Рассчитанные запасы вида на всей территории составили 132 поселения или 442 особи, средняя плотность населения – 0,48 поселений или 1,65 особей на 1 км длины водоема. Численность бобра в заповеднике после максимума численности, приходящегося на в 2006–2008 гг., несколько снизилась.

Было учтено также 69 семейных участков ондатры, на которых обитают 223 особи. Средняя плотность населения ондатры составила 0,41 семейных участков или 1,31 особи на 1 км длины водоема. Запасы вида на всей территории Керженского заповедника – 76 семей или 254 особи. Основная часть запасов сосредоточена на водоемах в пойме р. Керженец.

Отмечен рост частоты регистрации следов выдры, что свидетельствует о значительном увеличении ее численности в заповеднике. Даны рекомендации по продолжению мониторинга состояния поселений бобра в заповеднике.

На основании полученных результатов были разработаны рекомендации по продолжению исследований. Признано целесообразным продолжить учет бобровых поселений на территории заповедника осенью 2016 г. В первую очередь необходимо охватить учетом 117 км длины рек и ручьев, не обследованные в 2015 г. Желательно повторить учеты на участках р. Керженец, низовьев его притоков и пойменных водоемов общей длиной 50–80 км, что позволит уточнить современное распределение и запасы бобров на территории заповедника. Целесообразно также, используя материалы 2015–2016 гг., провести анализ динамики численности и расселения бобров на территории Керженского заповедника за весь период его существования. В дальнейшем полные учеты бобровых поселений в заповеднике рекомендуется проводить в течение 2–3 лет с перерывами также в 2–3 года.

СОДЕРЖАНИЕ IgA, IgM, IgG В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ

В. В. Скворцова¹, Е. И. Крестова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
lera01_09_94@mail.ru

²Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава РФ, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18

Остеомиелит – это гнойное воспаление костного мозга и окружающих его тканей, вызываемый пиогенными бактериями. Он имеет разные формы, которые характеризуются соответствующими изменениями в иммунологической реактивности. Изменение уровня сывороточных иммуноглобулинов создает представление о силе иммунного ответа при остеомиелите на определенной стадии заболевания. Эта информация может быть использована при подборе способа профилактики или лечения остеомиелита. Целью исследования явилось обнаружение IgA, IgM, IgG и в сыворотке крови у пациентов с хроническим остеомиелитом и у здоровых людей (контрольная группа).

Были исследованы 15 образцов сыворотки крови пациентов с хроническим остеомиелитом в стадии обострения при поступлении в стационар до начала проведения медикаментозного и хирургического лечения, а также 15 образцов сыворотки крови здоровых людей (контрольная группа). Определение содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Статистическая обработка проводилась с использованием программы Graph Pad Prism5. Достоверность различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Обнаружено, что содержание IgG в сыворотке крови пациентов с хроническим остеомиелитом составило $13,77 \pm 0,35$ г/л, что превышает значения контрольной группы – $10,50 \pm 1,2$ г/л. Увеличение концентрации IgG свидетельствует о наличии хронического инфекционного процесса в организме. Содержание IgA в сыворотке крови больных остеомиелитом составило $3,23 \pm 0,09$ г/л, что статистически значимо выше содержания IgA у здоровых доноров, которое равно $2,00 \pm 0,50$ г/л. Подобное повышение уровня IgA может быть также характерно для больных с хроническими инфекционными заболеваниями. Содержание IgM у больных хронической формой остеомиелита составило $1,58 \pm 0,03$ г/л, что примерно соответствовало содержанию IgM в контрольной группе, которое составило $1,70 \pm 0,70$ г/л. Таким образом, статистически значимых отличий выявлено не было, что может быть связано с отсутствием адекватного иммунного ответа на обострение хронического инфекционного процесса.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при повышении общего содержания IgG и IgA отсутствуют достоверные изменения для IgM на фоне обострения хронического остеомиелита, которое требует терапии в условиях стационара.

СТРУКТУРИРОВАНИЕ ТРЕХМЕРНЫХ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ МАТРИКСОВ МЕТОДОМ МИКРОМОЛДИНГА НА ОСНОВЕ ПОЛИ(D,L-)ЛАКТИДОВ

И. А. Сластенко, П. С. Тимашев, К. Н. Бардакова, Г. И. Пудовкина

Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН,
142092, Московская область, Троицк, ул. Пионерская, 2;
cfc.slastenko@gmail.com, timashev.peter@gmail.com

Исследования и разработки в области биомедицинского материаловедения, направленные на решение задач регенеративной медицины, с каждым годом становятся все более актуальными. Разработка новых материалов медицинского назначения, предназначенных для контакта со средой живого организма, представляет собой междисциплинарную задачу. Особо востребованы специализированные биосовместимые материалы для нового направления медицинского материаловедения – клеточной и тканевой инженерии, связанного с реконструктивной хирургией и разработкой биоискусственных органов.

Основу тканеинженерной конструкции составляет трехмерная структура (или матрица, скаффолд), обычно формируемая на основе полимеров. Широко используемые природные полимеры обладают высокой биосовместимостью, но низкими механическими характеристиками, в отличие от композиций на основе синтетических полимеров. К преимуществам синтетических материалов можно отнести также возможность регулирования пористости, свойств биодegradации и биосовместимости. Традиционными методами формирования таких 3-х мерных структур для регенеративной медицины являются: сублимация (freeze-drying), экструзия, электроспиннинг, выщелачивание и целый ряд других.

В последние десятилетия набирают популярность методы структурирования трехмерных структур на основе лазерного излучения. Для создания микроструктур с высоким разрешением могут быть использованы методы двухфотонной лазерной стереолитографии (2ФП) и метод микромолдинга (3D Micromolding). Несмотря на высокое разрешение метода 2ФП (<100 нм), возможность работы с термочувствительными биосовместимыми материалами (нет локальных перегревов в области сшивки), он имеет ряд существенных недостатков, среди которых низкая производительность процесса и высокая стоимость метода.

В представленной работе разработана методика создания тканеинженерных структур методом микромолдинга на основе поли-(D,L)лактидов с различной степенью прививки. Данный метод позволяет за короткий промежуток времени структурировать большое количество скаффолдов с одинаковой геометрией, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве матриксов для тканевой инженерии. Их структурирование производилось на лазере LS-2138 TF (длина волны 265 нм). Полученные матриксы обладали четкой структурой, которая сохранялась со временем. Данные метода ДНК-комет полученных образцов полилактидов показали отсутствие генотоксичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ МОНИТОРИНГА ДНЕВНЫХ ХИЩНЫХ ПТИЦ НА ТЕРРИТОРИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКАЗНИКА «КЛЯЗЬМИНСКИЙ»

Я. А. Слащинуна

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;

Slashinina.yana@yandex.ru

Хищные птицы – одна из важных и уязвимых групп. Мониторинг дневных хищных птиц в республиканском заказнике «Клязьминский» ведется с 1996 г. (Мельников, 2001). Нами были проведены количественные учеты соколообразных на постоянной площадке в первой декаде июля в период 2007–2015 гг. За период наблюдений было обнаружено 17 видов. Оценка численности хищных птиц производилась методом картирования гнездовых территорий. Продолжительность использования гнездовых территорий оценивалась за шестилетний период (2007–2010 и 2013–2014 гг.). Обследованная площадь 76,1 км².

Доминантом в населении хищных птиц является черный коршун, содоминантом – канюк обыкновенный. Гнездовые территории обыкновенного канюка располагаются в основном по периферии заказника, вдоль сельскохозяйственных угодий, в то время как черный коршун локализован ближе к центральной части заказника, вдоль крупных водоемов. С 2012 г. резко увеличилась численность обыкновенного осоеда. Численность полевого луны на территории заказника постепенно снижается. Луговой лунь на исследуемой территории отмечался не регулярно. Плотность в среднем составляет 2,63 пар/100 км². Болотный лунь, который также отмечался на территории заказника с 1999 г., за период исследований нами был отмечен лишь в 2012 и в 2013 гг. Не исключено, что низкая численность луней связана с практически полным прекращением сельскохозяйственной обработки угодий, расположенных вблизи границы заказника. Ястреба тетеревятник и перепелятник на территории заказника относительно редки, несмотря на хорошую кормовую базу. Плотность тетеревятника значительно ниже, чем перепелятника и за последние 2 года вид не был отмечен. Это может быть связано с недоучетом, так как тетеревятник является достаточно скрытным. На территории заказника гнездятся большой и малый подорлики, их гнездовые территории расположены на небольшом удалении друг от друга в основном в труднодоступных пойменных участках леса вблизи Клязьмы. Комплекс пойменных ландшафтов Клязьмы и ее притоков является одним из важнейших местообитаний этих глобально угрожаемых видов (Мельников, 2014). Орлан-белохвост отмечается нами с июля 2012 г. на Клязьме. Гнездование орлана на территории заказника было подтверждено находкой гнезда на границе Ивановской и Владимирской областей. В 2007 г. был зарегистрирован орел-карлик. К сожалению, подтвердить гнездование данного вида на территории заказника пока не удалось. На территории заказника отмечается гнездование змеяда. Этот редкий вид, занесенный в Красную книгу РФ, нуждается в дальнейшем изучении и специальных мерах охраны. В 2007 г. был отмечен слеток скопы. Скопа нами также отмечалась в 2008, 2009 и в 2014 гг. Чеглок гнездится на изучаемой территории с низкой плотностью. Появление на гнездовании дербника отражает тенденцию к его расселению по региону. В 2014 г. увеличилась численность пустельги, ранее не гнездившейся в районе заказника, были выявлены 3 пары. В 2015 г. плотность пустельги оставалась на том же уровне.

Высокая численность дневных хищных птиц объясняется целым рядом причин: разнообразие местообитаний, мозаичность ландшафта, которая обеспечивается сочетанием сухих сосновых боров, пойменных озер и лугов; наличие старовозрастных, высоких, подходящих для гнездования целого ряда видов хищных птиц деревьев, режим охраны. В пойме практически полностью отсутствует хозяйственная деятельность. С другой стороны, это приводит к зарастанию лугов, и как следствие, к сокращению охотничьих участков для многих видов.

СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОЛЛОИДНОГО СЕЛЕНА И СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА ПОЧВЕННЫЕ МИКРОООРГАНИЗМЫ

Д. Б. Смирнова, Д. А. Ивахнова, К. В. Апрятина

Университет Лобачевского, 630950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
keltica13@mail.ru

Накоплен значительный экспериментальный материал, свидетельствующий о благотворном влиянии коллоидного селена на естественные почвенные микроорганизмы. В лабораторных условиях исследования проводились на *Azotobacter chroococcum*. Микроорганизмы выращивались в чашках Петри при добавлении в среду различных концентраций коллоидного селена (от 0,1 до 5 мг на литр среды). В ходе исследований было выявлено, что концентрации коллоидного селена 0,5, 3 и 4 мг/л в среде активируют рост колоний *Azotobacter*. Также проведён опыт с селенитом натрия в тех же концентрациях (от 0,1 до 5 мг на литр среды в пересчёте на селен). Диаметр колоний всех опытных образцов примерно на 30% ниже, чем в контрольном образце, который выращивался на среде без добавок.

На следующем этапе были проведены полевые испытания. Был заложен мелкоделяночный опыт по выращиванию пшеницы, семена которой при посадке были обработаны растворами коллоидного селена, хитозана (вещество, стабилизирующее коллоидный селен, является контрольным по отношению к селену), селенита натрия. Также был заложен контрольный участок, засеянный необработанными семенами. В течение вегетационного периода каждую декаду снимались средние пробы земли с каждого опытного участка. Количество микроорганизмов в почвенных пробах выявлялось методом подсчета общего микробного числа почвы (ОМЧ).

При учёте средних результатов, ОМЧ в пробах с добавлением раствора хитозана на 14,8% выше, чем в контрольных образцах. Показатели ОМЧ в пробах почвы с добавлением коллоидного селена являются самыми высокими, на 23,7% выше, чем аналогичные показатели в пробах почвы с добавлением хитозана. При этом, количество почвенных микроорганизмов в пробах с добавлением селенита натрия на 42,9% ниже, чем в контрольных пробах.

Таким образом, наше исследование показало, что коллоидный селен положительно влияет на рост естественных почвенных микроорганизмов (в частности *A. chroococcum*), а селенит натрия, напротив, является ингибитором роста микроорганизмов, что, в конечном итоге, негативно влияет на общее состояние почвенной биоты.

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ ЗЕЛЕННЫХ КРЫШ КАК ПУТЬ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ В ГОРОДАХ

И. С. Соколов

Мининский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 7;
cjrjk96@yandex.ru

Одна из важнейших проблем мегаполисов – постоянное сокращение площади зеленых насаждений, ведущее к дефициту свежего воздуха и стремительному обеднению биоты городов. Современная урбэкология уделяет большое внимание способам решения этой проблемы. В последние годы для этого все чаще используют так называемые зеленые крыши – многоуровневые кровельные устройства, на которых можно выращивать неприхотливые газоны или разбить настоящий сад. Метод зеленых крыш широко используется в городах Европы, США, Китая и странах Юго-Восточной Азии. Эта инновация была разработана на основе традиционного типа кровли в Норвегии, где зеленые крыши распространены повсеместно. Их покрывали дерном и березовой корой со времен викингов. В настоящее время в Норвегии зеленые крыши обустроены почти в 90% частных коттеджей и многоквартирных домов, а также общественных зданий.

Широкое распространение этого типа кровли в городах закономерно. По замерам, произведённым в 2003 г. в Торонто (Канада), зеленая кровля способствовала снижению концентрации оксида азота и диоксида серы на 5–10%. С 2009 г. в Канаде озеленяется каждая крыша, площадь которой превышает 2000 м². Во многих европейских городах озеленение крыш стало обязательным для застройщиков. Так, в Швейцарии с 2002 г. озеленению подлежит каждая плоская крыша (в городе Базель озеленено 1930 крыш), в Копенгагене (Дания) с 2010 г. каждая крыша озеленяется. В Германии ежегодно появляется около 14 миллионов зелёных крыш. Подобный опыт практикуется и в Токио: с 2001 г. озеленению подлежат 20% крыши площадью от 250 м² и 10% крыши площадью более 1000 м². Зелёные крыши Токио в год экономят около миллиона долларов бюджетных средств за счёт снижения энергозатрат на кондиционирование помещений.

В 2015 г. начата реализация первого в Нижнем Новгороде проекта по созданию зеленой крыши. Для этого выбрано здание клинико-диагностического центра в д. Новая Нижегородский района. Площадь кровли, подлежащей озеленению 450 м². Проект реализуется ИП «Соколов С. Б.». В разработке проекта озеленения данной крыши принимал участие автор настоящего сообщения. В озеленении планируется использовать 17 видов деревьев и кустарников, в том числе занесенный в Красную книгу Нижегородской области княжик сибирский (*Atragene sibirica*). Это лиана до 4 м высотой, обитающая в южной тайге и не требующая укрытия на зиму. Цветки белые, некрупные, многочисленные, придают княжику особое скромное обаяние. Он тенелюбив, абсолютно морозостоек (выдерживает температуры –40°С и ниже), умеренно влаголюбив, к почвам нетребователен. Основными критериями отбора остальных видов растений были неприхотливость, устойчивость к воздействию ветра, высокие декоративные качества и продолжительность цветения.

Технология создания зеленых крыш, на наш взгляд, может замедлить негативные тенденции утраты биологического разнообразия в городах, вызванные экологически необоснованными методиками ухода за газонами, уничтожающими места обитания большого количества видов беспозвоночных, в первую очередь – чешуекрылых.

Завершение проекта планируется летом 2016 г. В течение двух лет мы будем осуществлять мониторинг состояния данного объекта. Если результаты испытания, разработанного проекта озеленения первой зеленой крыши Нижнего Новгорода дадут позитивный эффект, мы будем распространять полученный опыт.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИММУНОТОКСИН НА ОСНОВЕ HER2-СПЕЦИФИЧНОГО АНТИТЕЛА 4D5scFv И ПСЕВДОМОНАДНОГО ЭКЗОТОКСИНА А

Е. А. Соколова^{1,2}, Е. Л. Гурьев¹, О. А. Стремовский², С. М. Деев^{1,2}, И. В. Балалаева¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
malehanova@mail.ru

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

В настоящее время активно развивающимся направлением биомедицинских исследований является разработка препаратов для направленной, или таргетной, терапии, предполагающей нацеленную доставку терапевтических агентов различной природы к опухолевым клеткам. Перспективными агентами для таргетной противоопухолевой терапии представляются рекомбинантные иммунотоксины – бифункциональные белковые конструкции, в составе которых направляющая молекула (фрагмент антитела) объединена с мощным токсином бактериального, растительного или животного происхождения. Одной из апробированных молекулярных мишеней для таргетной терапии является рецептор-онкомаркер HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2), гиперэкспрессия которого характерна для многих типов опухолей.

Целью работы являлось получение и исследование свойств рекомбинантного иммунотоксина на основе HER2-специфичного антитела 4D5scFv и фрагмента экзотоксина А бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (PE40).

Целевой белок нарабатывали в *Escherichia coli* штамма BL21(DE3) и очищали методами металл-аффинной хроматографии и гель-фильтрации. Методами поверхностного плазмонного резонанса и проточной цитофлуориметрии были показаны высокая аффинность полученного иммунотоксина 4D5scFv-PE40 к рекомбинантному белку HER2 и его специфичное связывание с HER2 на поверхности клеток. С помощью конфокальной микроскопии было установлено, что после связывания с рецептором иммунотоксин попадает в клетку-мишень путем клатрин-зависимой интернализации и локализуется в лизосомах, а через более длительный период инкубации – в аппарате Гольджи и ЭПР. Такой характер внутриклеточного распределения характерен для экзотоксина дикого типа и свидетельствует о продуктивном транспорте его фрагмента в составе молекулы иммунотоксина. Была показана высокая цитотоксичность полученного иммунотоксина в отношении HER2-положительных клеток, выражающаяся в селективном ингибировании их жизнеспособности в пиколярном диапазоне концентраций, при этом обнаружена корреляция данного эффекта с уровнем экспрессии HER2 клетками. Показано также, что наблюдаемый цитотоксический эффект обусловлен подавлением биосинтеза белка и запуском апоптоза в клетках-мишенях. Противоопухолевая эффективность иммунотоксина была установлена и *in vivo*: в эксперименте с использованием HER2-гиперэкспрессирующей ксенографтной опухоли был выявлен выраженный эффект торможения опухолевого роста под действием 4D5scFv-PE40.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности рекомбинантного иммунотоксина 4D5scFv-PE40 в качестве агента для таргетной терапии HER2-гиперэкспрессирующих опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (договор № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проект № 14-14-00813).

ОЦЕНКА ЖИЗНЕННОГО СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЗОНАХ ЙОШКАР-ОЛЫ

Е. А. Старикова, А. А. Колпащиков, Е. В. Сарбаева

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
katya-starikova@mail.ru, sarbaevaev@mail.ru

Хвойные растения мало используются в озеленении городов, так как обладают высокой чувствительностью к газообразным загрязняющим веществам, но некоторые виды (туя западная, можжевельник казацкий, ель колючая и др.) отличаются значительной устойчивостью к техногенному загрязнению. Объектами наших исследований стали туя западная (*Thuja occidentalis*) и ель колючая (*Picea pungens*), весьма устойчивые к загрязнителям атмосферного воздуха. Цель работы – изучить морфофизиологические показатели хвойных интродуцентов в Йошкар-Оле.

Исследования проводились в разных районах города, отличающихся уровнем загрязнения атмосферного воздуха: рекреационная зона (парк), селитебная зона (центральная часть города), промышленная зона. Изучались посадки хвойных растений, состоящие из особей среднего возраста генеративного онтогенетического состояния (g2). Жизненное состояние деревьев определяли по шкале жизненности, предложенной В. А. Алексеевым (1990) и дополненной С. М. Бебия (2000).

Максимальное количество особей туи западной и ели колючей, относящихся к классу здоровые произрастали в селитебной зоне. В большинстве районов исследования более 21% туи и около 14% ели находились в состоянии угнетения (II класс жизненности). Среди исследуемых нами хвойных растений, произрастающих на территории Йошкар-Олы, 9% туи и 10% ели было отнесено к группе сильно угнетенных растений (III класс жизненности). Возможно, из факторов городской среды максимальное влияние на них оказали рекреационные воздействия, которые привели к механическим повреждениям растений.

Для оценки влияния факторов городской среды на посадки туи и ели, произрастающих на территории Йошкар-Олы, использовали индекс жизненного состояния древостоя. Среди исследуемых нами насаждений максимальным показателем жизненного состояния характеризовались особи, произрастающие в селитебной зоне (100%). Это можно связать с тем, что данные особи произрастают в более благоприятных условиях, подвергаются меньшим рекреационным воздействиям. Однако, количество здоровых деревьев на этих улицах достигало лишь 53%. В то же время все особи из рекреационной зоны города были отнесены к категории «здоровые». Возможно, небольшое снижение жизненного состояния деревьев является одним из показателей рекреационного воздействия, либо угнетения со стороны лиственных деревьев, что и привело к снижению их жизненности. В промышленных районах города уровень жизненности падал почти в 1,5 раза (у туи до 78,8% и у ели до 62,5%). Такое снижение жизненного состояния может свидетельствовать о том, что условия промышленной зоны Йошкар-Олы являются одними из наиболее неблагоприятных для произрастания данных видов.

Нами также был рассчитан индекс жизненного состояния древостоя, который у туи в селитебной и промышленной зонах был выше, чем у ели. В связи с этим можно предположить, что туя западная обладает высокими адаптивными способностями, обусловленными соответствием почвенно-климатических факторов, минерального питания и условием освещения потребностям данного вида.

ОЦЕНКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ *IN VITRO*

А. И. Стародумова¹, М. Н. Маслова¹, С. А. Боаге^{1, 2}, Р. О. Шилкина¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *marishamaslova@yandex.ru*

²ЗАО «ФИРМА «БИОМ», Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3

При сахарном диабете упругость и деформируемость эритроцитов зависит от количества гликированного гемоглобина в клетке, времени его образования и метаболизации до конечных продуктов.

Цель работы – исследование акустических параметров (упругости) эритроцитов и содержания гликированного гемоглобина в условиях моделирования гипергликемии *in vitro*. Объект исследования – цельная кровь практически здоровых доноров в возрасте 30–68 лет. Модель гипергликемии *in vitro* создавали путем добавления к цельной крови растворов глюкозы в физиологическом растворе (0,9%) до получения концентраций 7,5, 10, 20 и 40 ммоль/л (подопытные группы). Контролем служила цельная кровь с добавлением физиологического раствора (0,9%). Уровень гликогемоглобина определяли с помощью набора «ГЛИКОГЕМОТЕСТ». Измерение упругости эритроцитов проводили акустическим методом на приборе «БИОМ». Упругость эритроцитов и уровень гликогемоглобина исследовали через сутки после создания гипергликемии в условиях температуры +4°C и +23°C. В условиях низких температур моделирования гипергликемии показано повышение упругости эритроцитов крови подопытных групп по сравнению с контролем, независимо от концентрации глюкозы в крови. Однако не обнаружено существенных изменений в содержании гликированного гемоглобина в образцах крови после моделирования гипергликемии по сравнению с контролем.

При моделировании гипергликемии в условиях комнатной температуры показана прямая зависимость между упругостью эритроцитов и уровнем глюкозы в крови, однако повышение гликогемоглобина по сравнению с контролем наблюдалось в пробах с концентрацией 10 ммоль/л.

Таким образом в условиях моделирования гипергликемии *in vitro* не выявлено взаимосвязи между уровнем гликогемоглобина и акустическими параметрами эритроцитов. Повышение упругости эритроцитов после добавления различных концентраций глюкозы может быть обусловлено активацией углеводного обмена и изменением водно-солевого баланса в эритроцитах.

АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНОГО ДИСФЕРЛИНОПАТИЕЙ

***И. Г. Старостина, Е. В. Мартынова, В. В. Иванова, В. В. Соловьева, С. Ф. Хайбуллина,
А. А. Ризванов***

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

Дисферлинопатии человека относят к нейромышечным неизлечимым заболеваниям, связанным с нарушением экспрессии и/или функции белка дисферлина в скелетной мышце, что обусловлено мутациями в гене *dysf*. Для развития методов диагностики и терапии дисферлинопатий необходимо понимание молекулярных процессов, лежащих в патогенезе этого заболевания. Целью работы являлось проведение количественного анализа цитокинов/хемокинов в сыворотке крови пациента с дисферлинопатией.

Для исследования цитокинового профиля в сыворотке крови использовали набор Bio-Plex Pro Human Cytokine 21-plex Assay (BioRad) согласно методике, рекомендуемой производителем. Мультиплексный анализ является разновидностью твердофазного анализа, где в качестве носителя используют полистероловые микросферы.

Было показано, что в сыворотке крови пациента с дисферлинопатией значительно повышаются уровни интерлейкина 16 (ИЛ-16) и ИЛ-18, а также понижено содержание ИЛ-3 в сравнении с контрольными сыворотками здоровых людей. Клетками-продуцентами ИЛ-16 являются Т-лимфоциты и эозинофилы, поэтому можно судить о супрессии антиген-индуцированной пролиферации CD4+ Т-клеток. Высокий уровень ИЛ-18 указывает на активацию выработки интерферона гамма Т-лимфоцитами, стимуляцию пролиферации активированных Т-клеток и снижение продукции ИЛ-10 (провоспалительный цитокин) мононуклеарными клетками периферической крови. Значительное снижение уровня ИЛ-3 указывает на уменьшение стимуляции роста, дифференцировки и выживания ранних кроветворных клеток-предшественниц и снижение изменений функциональной активности зрелых клеток.

Полученные нами экспериментальные данные лягут в основу для разработки новых методов диагностики и подходов к терапии таких орфанных заболеваний, как дисферлинопатии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-00657.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ЦЕСАРОК РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД И ПОПУЛЯЦИЙ

А. Е. Степанова¹, Т. И. Суслик¹, Г. П. Дробот¹, В. А. Забиякин^{1, 2}

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1

²Марийский НИИСХ Россельхозакадемии, 425231, Республика Марий Эл, Медведевский р-н, пос. Руэм, ул. Победы, 10; droga59@mail.ru

В настоящее время остро стоит проблема продовольственной безопасности и замещения импортных пищевых продуктов, необходимости формирования здорового типа питания. В этом направлении перспективной сельскохозяйственной птицей являются цесарки, обладающие вкусным мясом и дающие питательные яйца. Данный вид характеризуется высокой естественной резистентностью, механизмы которой у цесарок изучены недостаточно.

Для оценки иммунного статуса цесарок предварительно определяли ряд клинических показателей крови у птиц отечественных пород Волжская белая и Загорская белогрудая, породы французской селекции Эссер и цесарок цветных популяций: серо-крапчатых и голубых (всего 60 особей, возраст 25–27 недель). В цельной крови определяли содержание эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, тромбоцитов в соответствии с общепринятыми методиками. Дополнительно изучали лейкоцитарную формулу, учитывая у каждой птицы по 100 клеток, а также сравнивали значения коэффициента пэ/л (соотношение долей псевдоэозинофилов и лимфоцитов).

Установлено, что уровень гемоглобина в целом соответствовал норме и его значения колебались от 85,0±4,4 до 128,0±6,98 г/л. Наибольшая величина этого показателя выявлена у самцов породы Эссер ($p<0,01$), а наименьшая у самок этой же породы ($p<0,01$). По содержанию лейкоцитов и тромбоцитов различий в крови изученных групп цесарок не выявлено. Было показано, что преобладающими клетками в структуре лейкоформулы являются лимфоциты, а вторыми по количеству – псевдоэозинофилы. При этом доля базофилов у самцов породы Эссер по сравнению с таковой всех других самцов цесарок минимальна. Количество моноцитов наоборот минимально у самцов Загорских белогрудых и серо-крапчатых цесарок. Содержание эозинофилов в крови самцов французских цесарок характеризуется большими значениями по сравнению с Загорскими белогрудыми и серо-крапчатыми цесарками. При анализе лейкоформул крови самок всех изученных групп цесарок установлены значимые различия по содержанию лимфоцитов и эозинофилов. Так, в лейкоформуле крови Загорских белогрудых количество лимфоцитов больше, чем у птиц Волжской белой породы и цветных популяций из ЗАО «Марийское». В то же время количество эозинофилов в лейкоформуле Загорских белогрудых минимально по сравнению с аналогичным показателем крови цесарок из ЗАО «Марийское». При анализе значений коэффициента пэ/л в лейкоформулах крови цесарок установлено, что у птиц всех исследованных групп, за исключением Загорских белогрудых, величины данного параметра относительно высоки. По-видимому, Загорские белогрудые, имея минимальные величины этих коэффициентов, обладают большей устойчивостью к стрессу по сравнению с другими изученными нами птицами. Следовательно, необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

Таким образом, общая клиническая картина крови всех групп цесарок характеризуется однотипностью, что свидетельствует об их относительном здоровье. Исключение составляют самцы и самки породы Эссер, у которых имеются отличия по содержанию гемоглобина. Лейкоформула крови цесарок всех изученных групп зависит от породы и характеризуется лимфоцитарным профилем и большим содержанием псевдоэозинофилов. Необходимы всесторонние исследования динамики коэффициента соотношения пэ/л в половозрастном аспекте и с учетом активности птиц, связанной с яйцекладкой.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРЫ ЭРИТРОЦИТОВ АКУСТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Д. А. Стрельцов, А. В. Клемина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
annet17@yandex.ru

Исследование физических характеристик биологических жидкостей является актуальной задачей, имеющей прикладное значение в области биологии и медицины. Акустические исследования биологических жидкостей позволяют изучать тонкие структурные характеристики и гидратацию биологических макромолекул в растворе, их межмолекулярные взаимодействия. Акустические исследования биожидкостей *in vitro* стали возможными с появлением прецизионного резонаторного метода измерения скорости и поглощения ультразвука в сверхмалых (менее 0,1 мл) жидкости с разрешением по скорости порядка 10^{-4} % и по поглощению порядка 10^{-2} %.

Целью данного исследования явилось исследование изменений структуры эритроцитов акустическим методом – методом интерферометра постоянной длины. Данный метод лежит в основе акустического резонаторного прибора – Анализатор акустический АКБа-01 БИОМ. Метод основан на использовании стоячих ультразвуковых волн в цилиндрическом резонаторе. Термостатирование акустических ячеек выполняет специализированный ультратермостат. Точность поддержания температуры в ячейках объемом 90 мкл составляет $0,002^{\circ}\text{C}$.

В ходе эксперимента бралась цельная кровь человека, на эритроциты которой действовали гипотоническими и гипертоническими растворами. Полученная суспензия помещалась в акустическую ячейку анализатора. Проводилось сравнение относительной скорости ультразвука в цельной крови и после воздействия на нее гипотоническим и гипертоническим растворами. Была получена четкая картина изменения структуры эритроцитов под воздействием растворов, причем все данные были получены акустическими измерениями. В дальнейшем эти экспериментальные данные могут служить основой для создания акустического метода определения структуры эритроцитов цельной крови человека.

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ № 15-42-02586.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ТЕПЛОВОМУ СТРЕССУ У ГОРОХА ПОСЕВНОГО

Д. М. Сурова, В. В. Гаспирович, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lyubovsurova@mail.ru

Вариабельный потенциал (ВП) способен влиять на многие физиологические процессы у растения, в том числе на фотосинтез и дыхание, способствуя адаптации к действию стрессовых факторов, однако механизмы такого влияния требуют тщательного изучения.

Исследования проводили на двухнедельных проростках гороха (*Pisum sativum*), выращенных в климатической камере на гидропонике при 16-часовом световом дне и температуре +24°C. Регистрацию электрических сигналов осуществляли с использованием хлорсеребряных макроэлектродов и милливольтметра ИПЛ-113. Анализ параметров фотосинтеза осуществляли с помощью РАМ-флуориметра Dual-РАМ-100 и газоанализатора GFS-3000, локальный прогрев листа проводили с помощью измерительного блока Dual-РАМ gas exchange Cuvette 3010-Dual. Для прогрева целого растения использовали воздушный термостат ТВ-20-ПЗ-«К». Определение содержания АТФ проводили люциферин-люциферазным методом на хемилюминометре Synergy 2.

Было показано, что ВП вызывал обратимую инактивацию фотосинтеза, которая связана со снижением активности темновой стадии и уменьшением транспирации. При этом ВП изменял устойчивость фотосинтетического аппарата к прогреву, повышая устойчивость фотосистемы I (ФС I) и снижая устойчивость фотосистемы II (ФС II). Рост устойчивости ФС I был связан с инактивацией темновой стадии фотосинтеза; снижение устойчивости ФС II – с уменьшением транспирации.

Рост устойчивости ФС I может быть связан с увеличением нефотохимического тушения флуоресценции, усилением циклического потока и накоплением АТФ. Рост нефотохимического тушения всегда наблюдается при развитии вызванных ВП фотосинтетических ответов. Показано, что ВП влияет на циклический поток электронов, вызывая увеличение разности потоков через фотосистемы, что соответствует активации циклического потока. Исследование влияния ВП на содержание АТФ выявило, что он способен вызывать повышение содержания АТФ в листьях гороха. Рост содержания АТФ имеет сложную кинетику и связан, по-видимому, с ответами фотосинтеза и дыхания.

Для определения итогового влияния ВП на теплоустойчивость была проведена оценка подавления роста гороха после прогрева. Показано, что индукция ВП снижает такое подавление, т.е. повышает температурную устойчивость растения в целом.

Таким образом, локальный ожог листа вызывает распространение ВП, который снижает активность фотосинтеза. При этом инактивируется цикл Кальвина, увеличивая циклический поток электронов, и происходит рост нефотохимического тушения. В итоге увеличивается энергизация растения в целом и его устойчивость к тепловому стрессу.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-01899а.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИНСУЛЬТАХ В ДИНАМИКЕ РЕАНИМАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ

Н. Ю. Тарасова, И. Н. Короткова, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
natalja.tara2014@yandex.ru

Ежегодно в мире инсульт переносят около 6 млн. человек, в России более 450 тыс. Причинами инсульта могут служить эмболия сосуда, его спазм, поражение сосудистой стенки (атеросклероз, артериит), либо системные нарушения (например, гипоксия или снижение сердечного выброса). Несмотря на сложность и полиморфизм изменений при инсультах, важным фактором, принимающим участие в нарушении мозгового кровообращения, является сама кровь, ее функциональные и морфологические характеристики. Учитывая, что аноксия (гипоксии) мозга сопровождается нарушением ионного гомеостаза, энергозависимых и энергонезависимых процессов транспорта ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- через различные клеточные мембраны с изменением их концентрации, можно предположить эффективность терапевтических мероприятий, связанных с использованием препаратов нормализующих водно-электролитный баланс в организме. Цель исследования – изучить динамику изменения функциональных показателей эритроцитов у пациентов при терапии инсульта стерофундином.

В работе был проведен анализ крови 15 пациентов (исследование проведено совместно с кафедрой анестезиологии и реаниматологии ФПКВ ГБОУ ВПО НижГМА МЗ РФ). Пациентам на фоне стандартной терапии вводили 500 мл/сут стерофундина в подключичную вену внутривенно, капельно в течение 3 суток. Стерофундин – сбалансированный кристаллоидный раствор, в отношении основных катионов сходный с составом плазмы крови. Исследовали кровь пациентов до и после введения препарата на 1, 2 и 3 сутки. Изучали электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), концентрацию малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах, состояние системы глутатиона, активность Na-K-АТФазы, концентрацию аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ). Обработка экспериментальных данных проводилась с использованием критерия Вилкоксона.

В ходе исследования было выявлено, что использование стерофундина приводило к снижению концентрации МДА, росту активности Na-K-АТФазы и увеличением АТФ в эритроцитах на протяжении всего срока наблюдения по сравнению с уровнем изучаемых показателей при поступлении больных в ОРИТ. Наиболее выраженные изменения были выявлены в первые сутки введения препарата. При этом концентрация 2,3-ДФГ не изменялась. В отношении ЭФПЭ, а также восстановленной и окисленной формы глутатиона изменения носили кратковременный характер и проявлялись сразу после введения препарата, что выражалось в увеличении восстановленного, окисленного глутатиона и ЭФПЭ.

Анализ результатов свидетельствует, что использование стерофундина определяло снижение процесса перекисного окисления липидов, повышенного после острого инсульта, что сопровождалось восстановительными процессами состояния эритроцитарной мембраны (характеризующимися ЭФПЭ) и метаболизма клеток (ростом АТФ).

НОВАЯ LIKE-СИСТЕМА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОМЫШЛЕННО ВАЖНЫХ БЕЛКОВ

А. О. Тихонова, А. А. Тойменцева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 8;
tihonovaaao93@gmail.com

Рост населения Земли предполагает увеличение масштабов производства промышленно важных белков – для биотехнологий, биофармацевтики (факторы крови, тромболитики и антикоагулянты, гормоны, ферменты, факторы роста, интерфероны и интерлейкины, вакцины), сельского хозяйства (ферменты животных кормов; средства защиты растений), производства моющих средств, природоохранной деятельности (ферментные системы биодеградации токсичных соединений окружающей среды). Интерес к ферментам микроорганизмов объясняется недостаточной способностью белков животного и растительного происхождения удовлетворять рыночный спрос на жизненные потребности населения планеты. Для производства любого рекомбинантного белка необходима экспрессионная система, обеспечивающая повышенный выход продукции. Выбор системы экспрессии зависит от свойств целевого белка и способности хозяйской клетки продуцировать белок нужного качества при соблюдении минимального набора требований. Таким образом, актуальной задачей является как совершенствование известных, так и создание новых экспрессионных систем.

Как правило, экспрессионная система представляет собой плазмиды (векторы), в составе которых располагаются все необходимые регуляторные элементы (промоторы, соответствующие гены белков-регуляторов) для последующей интеграции под их контроль целевых генов. Такие плазмиды переносят в клетку-продуцент (бактериальные, эукариотические) для производства целевого белка.

На основе промотора P_{lial} *Bacillus subtilis* нами создана новая LIKE-система экспрессии (от нем. *Li*a-Kontrollierte Expression), позволяющая направленно изменять экспрессию генов при добавлении стрессового фактора (индуктора) в питательную среду. В качестве индуктора использован антибиотик бацитрацин. Эксперименты с использованием генов *lacZ* и *gfp* под контролем промотора P_{lial} показали особо высокий уровень экспрессии (до 1000 раз) этих генов при воздействии антибиотика. Причем накопление целевого белка проявляется уже через 10–15 мин в отличие от аналогов, проявляющих свое действие только через несколько часов. LIKE-система основана на двух типах векторов: *pLIKE-int* и *pLIKE-ger*. Первый тип позволяет получать экспрессию интересующего гена в геноме. Второй, *pLIKE-ger* тип – на плазмиде. LIKE-система содержит оптимизированный промотор P_{lial} , что 6-кратно повышает эффективность трансляции. По сравнению с интегративной экспрессией, репликативная экспрессия даёт повышенный выход белка вследствие мультикопийности вектора.

Использование обнаруженного нами промотора *B. subtilis* и созданной на его основе системы производства рекомбинантных белков различного целевого назначения, является высокоперспективной основой промышленных биотехнологий получения импортозамещающих белковых препаратов.

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ИЗЛУЧЕНИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO*

С. В. Трофимова¹, К. А. Астафьева¹, Е. С. Пугина², А. И. Самойлова²

¹Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 70; kseniya130692@yandex.ru

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

В настоящее время проблемой практической онкологии является высокая токсичность и низкая избирательность действия противоопухолевых препаратов. Ведется поиск и разработка новых и эффективных технологий с цитотоксическим действием в отношении неопластических клеток. Особый интерес представляет такой физический фактор, как излучение газоразрядной плазмы. Однако до настоящего времени не изучен вклад физических факторов газоразрядной плазмы в цитотоксическое действие. Поэтому целью работы была оценка вклада физических факторов излучения газоразрядной плазмы в цитотоксический эффект в экспериментах *in vitro*.

В работе использовали газоразрядные устройства с характеристиками: 1 Гц, 10 Гц, 50 и 100 Гц; поток фотонов $1,26 \cdot 10^{-10}$ моль $(\text{см}^2 \cdot \text{с})^{-1}$ и $5,4 \cdot 10^{-8}$ моль $(\text{см}^2 \cdot \text{с})^{-1}$; энергия 0,05 Дж/имп и 5 Дж/имп. Объекты исследования: взвеси эритроцитов крыс линии Wistar ($(4,8-5) \cdot 10^7$ кл/мл); суспензии клеток лимфосаркомы Плисса (ЛСП) ($5 \cdot 10^6$ кл/мл) и рака молочной железы (РМК) ($5 \cdot 10^6$ кл/мл). Суспензии клеток обрабатывали в объеме 4 мл в различных временных режимах. Контролем служили необработанные образцы. Гидрофобность и микровязкость мембран опухолевых клеток изучали по флуоресценции 1,6-дифенил-1,3,5-гексатриена и пирена. Изменение метаболической активности опухолевых клеток исследовали по флуоресценции НАДН и ФАД. Установлено, что излучение плазмы искрового разряда обладает цитотоксическим действием в отношении исследуемых объектов. С увеличением времени воздействия различными импульсными режимами наблюдается постепенное снижение количества эритроцитов интактных животных и эритроцитов животных с неопластическим процессом. Эритроциты после воздействия излучения плазмы искрового разряда с частотой 1 и 10 Гц сохраняли свою жизнеспособность в течение 3–5 минут, а к действию частот 50 и 100 Гц были наиболее устойчивы. При исследовании вклада энергии в жизнеспособность эритроцитов было установлено, что воздействие энергией в 0,05 Дж в течение 30 сек. является полулетальной дозой. При воздействии на взвесь эритроцитов энергией в 5 Дж наблюдается высокая устойчивость клеток даже при 1200 сек. обработки. Более устойчивы эритроциты оказались к действию излучения плазмы искрового разряда с потоком фотонов $1,26 \cdot 10^{-10}$ моль $(\text{см}^2 \cdot \text{с})^{-1}$. При изучении влияния физических факторов на клетки ЛСП были показаны аналогичные результаты. Установлено, что воздействие различных частот и потоков фотонов на гидрофобность мембран эпителиальных и лимфоидных клеток приводят к разнонаправленным изменениям, но более выраженными они были при воздействии наибольшим потоком фотонов, а именно $5,4 \cdot 10^{-8}$ моль $(\text{см}^2 \cdot \text{с})^{-1}$. К более выраженному снижению микровязкости липидного бислоя мембран клеток приводит влияние частот 1 и 10 Гц в течение 1200 сек. в 1,5 раза и потоков фотонов в 1,6 раз, а в зоне белок-липид – наибольший поток фотонов в 4 раза. Показано, что к наибольшему накоплению восстановленного НАДН приводит воздействие наибольшим потоком фотонов в 5 раз по сравнению с контрольной группой. Уровень окисленного ФАД возрастал при действии частотами 1 и 10 Гц в 5 и 2 раза соответственно, а при воздействии потоком фотонов $1,26 \cdot 10^{-10}$ моль $(\text{см}^2 \cdot \text{с})^{-1}$ в 2 раза. Физические факторы излучения газоразрядной плазмы, такие как частота следования импульсов, энергия в импульсе и поток фотонов обладают цитотоксическим действием в отношении эритроцитов, клеток лимфосаркомы и рака молочной железы крыс.

ШТАММЫ *BACILLUS* SPP. С ВЫСОКОЙ ФИТАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Д. С. Трошагина, И. А. Агабекян

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

Фосфор, являясь компонентом ключевых биомолекул – нуклеиновых кислот, фосфолипидов, АТФ, связан со всеми системами преобразования энергии в живой клетке. Он принимает участие в контроле главных ферментативных реакций и метаболических путей как на клеточном, так и на организменном уровнях. Животные получают фосфор с пищей, растения и почвенные микроорганизмы непосредственно из почвы. Большая часть почвенного фосфора представлена недоступной для питания высших эукариот формой – фитатов. В настоящее время проблема дефицита доступного фосфора в почве становится все более актуальной. Один из путей решения этой проблемы – использование специфических микробных ферментов фитаз, способных гидролизовать фитаты до легко усвояемых остатков фосфорной кислоты и инозитола. Щелочные β-пропеллерные фитазы, продуцируемые бактериями рода *Bacillus*, обладают термостабильностью и высокой субстратной специфичностью, что делает их перспективными для использования в различных областях биотехнологии.

Для эффективной продукции ферментов необходимы штаммы-продуценты фитаз с последующей разработкой эффективных систем экспрессии для практических целей. В этом направлении перспективным является использование дрожжевых систем экспрессии рекомбинантных белков. Дрожжи относят к безопасным организмам, они обладают способностью к быстрому росту на дешевых питательных средах, осуществляют посттрансляционные модификации белков как эукариотические организмы и секретируют целевой белок в культуральную жидкость, что облегчает процесс очистки.

Целью работы является поиск и отбор штаммов *Bacillus* spp. с высокой фитазной активностью. В ходе работы мы проводили селекцию фитат-гидролизующих штаммов микроорганизмов на фитат-содержащей среде PSM (Phytase Screening Medium). Штаммы были выделены из ризосферы картофеля, предоставленного Татарским Научно-исследовательским Институтом сельского хозяйства. Из 9 штаммов, наибольшую способность к гидролизу фитата показали штаммы *Bacillus subtilis* 4, *B. altitudinis* и *B. ginsengihumi*. Исследовали динамику роста и накопления в культуральной жидкости фитазной активности отобранных штаммов в течение 72 часов. Максимальную фитазную активность изолированных штаммов наблюдали на 22, 20 и 22 часах роста культур (0,403, 0,021 и 0,199 U/mg соответственно).

Таким образом, нами отобраны три штамма *Bacillus* sp., экспрессирующие активные внеклеточные фитазы. Сравнительное исследование физико-химических свойств и специфичности этих ферментов позволит отобрать наиболее перспективные фитазы для последующего клонирования генов ферментов и создания высокоактивных экспрессионных систем на основе дрожжевых клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-60191.

ИНТРОДУКЦИЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ГОРНЫХ ВИДОВ ЗВЕРБОЯ (*HYPERICUM L.*) В БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ННГУ

М. О. Турушев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lebron_2394@mail.ru

В коллекции Ботанического сада ННГУ до сих пор отсутствовали травянистые интродуценты рода *Hypericum L.* Род насчитывает около 400 видов, многие из которых являются ценными лекарственными растениями, содержащими вещества с антиоксидантными, противоопухолевыми и антидепрессантными свойствами. Некоторые виды из-за неумеренной заготовки и других антропогенных воздействий становятся редкими. Поэтому изучение их биологии в условиях интродукции весьма актуально.

Для интродукции и изучения выбрано 3 вида: *Hypericum montanum*, *H. orientale* и *H. montbretii*. Первые два вида зарегистрированы в 1–2 ботанических садах России, последний – в отечественных коллекциях отсутствует. Эксперимент проводился в условиях четырех режимов, различающихся по субстратам и освещенности (в тени/на свету): 1) дерновая земля + торф + песок в соотношении 1:2:1 (смесь А), на свету; 2) смесь А, в тени; 3) дерновая земля + известковый щебень в соотношении 1:1 (смесь Б), на свету; 4) смесь Б, в тени. Определялось отношение числа сохранившихся к концу опыта растений к их первоначальному количеству в контейнере. С каждого растения снимались следующие показатели: длина побегов первого порядка; количество пар, длина и ширина развитых стеблевых листьев; индекс листа (отношение длины листа к его ширине) на побегах первого порядка; длина междоузлий побегов первого порядка и отношение длины листа и междоузлия; количество и длина побегов второго порядка; количество пар, длина и ширина развитых листьев и индекс листа на побегах второго порядка.

Наиболее благоприятным на ранних стадиях для всех видов было выращивание в тени на хорошо дренированном грунте (режим 4), наименее благоприятны условия плодородного грунта с торфом в тени (режим 2) и грунта с известковым щебнем на солнце (режим 3). Наиболее устойчивым во всех экспериментальных режимах на ранних стадиях развития был *H. montanum*, самым уязвимым – *H. orientale*.

Для *H. montanum* более благоприятным является выращивание, как на ранних, так и на более поздних стадиях в условиях притенения на известковом грунте (режим 4). В этом случае растения относительно крупные, несколько более облиственные и с более крупными листьями. Для *H. montbretii* более благоприятно выращивание на известковом грунте, на ранних стадиях в условиях притенения, а затем на свету (режим 3), при этом сформировалось больше хорошо облиственных вторичных побегов. Для *H. orientale* грунт предпочтительнее более плодородный и гигроскопичный – с торфом, но менее плотный, более дренированный, чем в нашем опыте (можно добавить в почвенную смесь крупнозернистый речной песок), на ранних стадиях необходимо притенение, затем полное освещение (режим 1). Для этого вида требуется дальнейшее уточнение условий выращивания.

Индивидуальная изменчивость таких морфологических признаков как длина, ширина и индекс листа у изученных звербоев при выращивании в различных режимах у каждого отдельного экземпляра меньше, чем изменчивость каждого признака для всей экспериментальной серии. Коэффициент вариации длины междоузлий и соотношение длины листа и длины междоузлия в большинстве случаев имеет высокий и очень высокий уровень. Наименее вариабельным у всех видов во всех сериях был индекс листа. В менее благоприятных условиях коэффициенты вариации морфологических признаков чаще были высокими и очень высокими. В рекомендованных нами условиях выращивания степень изменчивости признаков оказалась ниже, что предпочтительнее в культуре растений как для ухода за ними и сбора лекарственного сырья, так и для декоративности.

ТЕСТИРОВАНИЕ ВИРУСНЫХ КОНСТРУКТОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА

С. А. Тутукова, Н. В. Пономарева, А. В. Лебедева, А. А. Бабаев, Е. А. Епифанова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tutukova.sveta@yandex.ru

Самым распространенным инструментом для доставки генетического материала в клетку являются вирусные векторы. Разнообразие вирусных векторов велико и все они имеют свои преимущества и недостатки. Аденовирусные векторы обеспечивают высокие титры рекомбинантного вируса и высокий уровень экспрессии вводимых генов. Вирусные векторы применяют и для доставки оптогенетических белков, например, Channelrhodopsins2 (ChR2). ChR2 формирует ионный канал в мембране и под воздействием источника света активируется, в результате чего в клетку входят ионы натрия, кальция, калия и хлора, что в свою очередь позволяет осуществлять мониторинг различных метаболических процессов в клетках, в частности контроль уровня возбудимости нейронов и кальциевый гомеостаз в астроглиальных клетках мозга.

В данной работе тестировали два аденовирусных вектора, сконструированных для экспрессии в астроцитах под промотором GFAP. GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок, образующий промежуточные филаменты в астроглии. Первый вектор содержал флуоресцентный белок GFP (Ex/Em 484/507), взаимодействующий с белками цитоскелета. Второй вектор состоял из оптогенетического белка ChR2 и желтого флуоресцентного белка Venus (Ex/Em 515/528). Но, прежде чем применять вирусный вектор в экспериментах *in vivo*, необходимо проверить его эффективность *in vitro* на простой модели.

В экспериментах *in vitro* использовали перевиваемую линию клеток U-251 MG – глиомы человека, полученную из Коллекции культур клеток Института цитологии (Санкт-Петербург). Глиома – опухоль, происходящая из астроцитарных клеток, за счет своего усиленного роста и простоты культивирования является прекрасной моделью для тестирования эффективности вирусных векторов. Культура клеток U-251 MG выращивалась на среде DMEM с содержанием сыворотки 10%, культивирование клеток с вирусом осуществлялось при плотности клеток 70–80% в поле зрения. Экспрессия вируса оценивалась на 1, 2 и 3 сутки на микроскопе Carl Zeiss 510 LSM. Максимум экспрессии аденовирусного вектора GFAP-GFP наблюдался на следующие сутки после трансфекции, а экспрессия аденовирусного вектора GFAP-ChR2-Venus была невысокой и проявлялась лишь на третьи сутки.

Отличие в экспрессии происходило из-за различий в молекулярной массе тестируемых конструкций: флуоресцентный белок GFP имеет небольшую массу 26,9 кДа, а конструкция ChR2-Venus – 67,99 кДа, к тому же он встраивается в мембрану. Таким образом, модель клеточной культуры глиомы человека хорошо подходит для тестирования эффективности вирусных векторов и для последующего их применения в экспериментах *in vivo*.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН ТЕРАГЕРЦОВОГО ДИАПАЗОНА НА СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Н. А. Тюрина, М. А. Шабалин, М. Н. Таламанова, Л. В. Ошевенский

Университет Лобачевского, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *zoo_zoo_5@mail.ru*

Исследование влияния терагерцового диапазона излучения на сегодняшний день идет очень интенсивно, что обусловлено особенностью действия терагерцового диапазона, спектры которого соответствуют колебательным и вращательным характеристикам большинства окружающих нас веществ, в том числе различным клеточным метаболитам. Учитывая, что одной из универсальных реакций организма на внешние воздействия являются процессы перекисного окисления липидов. Цель работы – изучить влияние электромагнитных волн терагерцового диапазона на перекисное окисление липидов плазмы крови.

Объектом исследования служила плазма крови нелинейных белых крыс. Облучение крови производили дозированным по мощности излучением с помощью автоматизированного микроволнового комплекса на базе гиротрона с рабочей частотой 263 ГГц по схеме: 1) 1 мин, мощность пучка 1 Вт, 200 мс, 60 сек.; 2) 150 импульсов, 200 мс, 30 сек.; 3) 75 импульсов, 200 мс, 60 сек.; 4) 75 импульсов, 200 мс, 30 сек. со скважностью 0,5. Облученную кровь центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Плазму отбирали и определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (диеновых, триеновых конъюгатов, оснований Шиффа) методом И. А. Волчегорского (1989). Полученные данные обработаны с помощью программы BioStat 5.8.4.

При изучении содержания диеновых конъюгатов в плазме крови у экспериментальных групп происходит увеличение данного показателя, однако статистических отличий не наблюдается ($p \geq 0,05$). При облучении плазмы крови волнами терагерцового диапазона происходит увеличение содержания триеновых конъюгатов во всех группах ($p \leq 0,05$). Максимальные изменения наблюдаются при облучении 75 импульсов, 200 мс, 30 сек. Также во всех группах мы наблюдали статистически значимое увеличение оснований Шиффа ($p \leq 0,05$). Можно предположить, что увеличение перекисного окисления липидов при облучении крови по принятой схеме обусловлено ослаблением антиоксидантного механизма защиты – инактивацией антиоксидантной системы крови. Интенсификация процессов перекисного окисления липидов электромагнитными волнами терагерцового диапазона требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ и Министерства промышленности и инноваций Нижегородской области в рамках научного проекта №15-44-02358 «р_поволжье_a».

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ICAM-1 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

С. В. Утукова, С. Г. Фомина, Д. В. Новиков, Л. Б. Луковникова, В. В. Новиков
НИЦ МББМ Университета Лобачевского, 603005, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д;
sveta.utukova@mail.ru

В многоклеточных организмах развитие контактов между клетками, а также между клетками и матриксом осуществляется при помощи молекул адгезии. Молекулы межклеточной адгезии – это связанные с плазматической мембраной белки, которые обеспечивают непосредственное взаимодействие клеток друг с другом. Одним из представителей молекул адгезии является ICAM-1 – мембранный гликопротеин, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов. Повышение уровня белка ICAM-1 в сыворотке крови наблюдается при различных заболеваниях, в том числе и при онкологических. Показано, что значительное усиление экспрессии ICAM-1 ассоциировано с агрессивным фенотипом опухоли у больных раком молочной железы (РМЖ), что делает его информативным биомаркером и потенциальной мишенью для противораковой терапии. Целью работы явилась характеристика экспрессии мРНК гена ICAM-1 в опухолевых очагах больных РМЖ.

В ходе работы было исследовано 40 образцов опухолевых очагов больных РМЖ, предоставленных ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ. Выделение суммарной РНК проводили смесью фенола с хлороформом. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием гексапраймеров. Уровень экспрессии гена ICAM-1 определяли методом ПЦР в режиме реального времени относительно мРНК генов домашнего хозяйства: убиквитин С (UBC), тирозин-3-монооксигеназа/триптофан-5-монооксигеназа, активационный протеин зета (YWHAZ) и бета-актин. Уровни исследуемых мРНК оценивали методом сравнения пороговых циклов с учетом эффективности реакции ($\Delta\Delta Ct$). Анализ полученных результатов проводился с использованием программ REST, Excel и GraphPad Prism.

В опухолевых очагах больных РМЖ экспрессия ICAM-1 регистрировалась в 31 (77,5%) образце. Анализ относительного содержания мРНК ICAM-1 в опухолевых очагах больных РМЖ не выявил статистически значимых отличий в зависимости от возраста и наличия метастазов. MUC1 является маркером плохого прогноза течения РМЖ. Сравнение уровня мРНК ICAM-1 в MUC1-негативных и MUC1-позитивных опухолевых очагах показало статистически значимое увеличение уровня экспрессии ICAM-1 в MUC1-позитивных опухолевых очагах больных РМЖ ($p \leq 0,05$).

Таким образом, повышенный уровень мРНК ICAM-1 в MUC1-позитивных опухолевых очагах может свидетельствовать об общих механизмах регуляции экспрессии этих генов, а также о большей подвижности клеток в MUC1-позитивных опухолевых очагах больных РМЖ.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОКОНТЕЙНЕРОВ НА ОСНОВЕ ГАЛЛУАЗИТНЫХ НАНОТРУБОК НА МАКРООРГАНИЗМ *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Г. И. Фахруллина, Э. И. Гаязова, Р. Ф. Фахруллин

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420000, Казань, ул. Кремлевская, 18;
namaz1000@gmail.com

Галлуазитные нанотрубки (ГНТ) рассматриваются в качестве одних из наиболее перспективных наноразмерных глинистых материалов. ГНТ является 1:1 диоктаэдрическим алюмосиликатным глинистым минералом $((Al_2Si_2O_5(OH)_4)_nH_2O$, где $n=0$ или 2), химически подобным каолину, но в отличие от него имеет трубчатое строение с внешним диаметром 40-70 нм, внутренним диаметром просвета 10-15 нм и длиной 500-1500 нм.

Нами было создано внешнее ферментноактивируемое покрытие на поверхности ГНТ, нагруженных бриллиантовым зеленым, активация которого должна происходить под действием внутриклеточных ферментов гликозил-гидролаз. Адресный выход доставленного вещества обеспечивается за счет деградации декстриновой упаковки под действием только внутриклеточных гликозил-гидролаз.

С использованием метода вакуумной загрузки в просвет ГНТ был загружен бриллиантовый зеленый (БЗ). Затем, нанотрубки, нагруженные БЗ, были функционализированы с использованием декстрина для формирования стопперов. Такое ферментно-активируемое покрытие на концах трубок позволяло сохранить БЗ внутри трубок во время доставки и обеспечить его выход внутри клеток после проникновения наноконтейнеров в цитоплазму. Декстриновые стопперы уменьшали выход БЗ в два раза, в сравнение с непокрытыми трубками, что позволяет увеличить количество доставленного веществ.

В качестве модельного объекта для экспериментальных исследований потенциальной токсичности нанотрубок галлуазита, заполненных БЗ, нами был выбран дикий тип свободноживущей почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans* (N2 Bristol). Наноконтейнеры (ГНТ+БЗ+декстрин) поглощались нематодами *C. elegans* при добавлении в среду и последующей инкубации. Распределение наноконтейнеров и высвобождение БЗ в пищеварительной системе нематод визуализировали при помощи темнопольной микроскопии. Показано накопление нанотрубок галлуазита в просвете кишечника нематод, проникновения в другие органы и ткани не происходило. При этом анализ поведенческих реакций показывает, что нематоды стараются избегать заполненных БЗ наноконтейнеров. Было фиксировано снижение продолжительности жизни и острая токсичность при высоких концентрациях наноконтейнеров, заполненных БЗ (5 мг/мл). Также отмечено нарушение процесса линьки, что отражается на развитии нематод. В целом, сами нанотрубки галлуазита и наноконтейнеры на их основе в низких концентрациях не оказывают существенного токсического воздействия нематод.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-14-00924).

ФОРМИРОВАНИЕ ТРЕХМЕРНЫХ СТРУКТУР НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ЛАЗЕРНЫХ АДДИТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

А. А. Фролова, К. Н. Бардакова

Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН,
142190, Троицк, ул. Пионерская, 2; *nastyfr@yandex.ru*

В настоящее время аддитивные технологии (или технологии трехмерной печати) успешно применяются для восстановления костных дефектов, в челюстно-лицевой хирургии, при проведении уретропластики и ряде других направлений терапии. При этом растет интерес к природным биodeградируемым полимерам, используемым для создания материалов биомедицинского назначения. Среди распространенных природных полисахаридов привлекает внимание хитозан и его производные: благодаря своей способности к контролируемой биорезорбции и высокой клеточной аффинности, они являются одними из наиболее перспективных полимеров для использования в качестве биостабильных имплантатов, т.н. матриксов/скаффолдов, которые помещают в место дефекта на длительные сроки функционирования.

В представленной работе для создания трехмерных структур использовали сополимеры хитозана, полученный оригинальным твердофазным методом синтеза, который позволяет за счет механически стимулируемого химического взаимодействия в смесях получать гибридные нанокomпозиты на основе несмешивающихся в обычных условиях полимеров и функциональных наполнителей. Такой подход дает возможность целенаправленно модифицировать свойства композитов в отсутствие токсичных компонентов: растворителей и разбавителей, катализаторов и инициаторов процессов, что обеспечивает экологическую чистоту метода и является важным фактором при создании безопасных материалов биомедицинского назначения.

Использовали аллилхитозан, полученный при взаимодействии хитозана и бромистого аллила в условиях сдвигового деформирования; привитые сополимеры хитозана с поливиниловым спиртом (хитозан-ПВС), хитозан – поли[(1→4)-2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкозу]. Для получения фоточувствительной композиции концентрированные растворы образцов смешивали с водным раствором фотоинициатора Irgacure 2959 и диакрилатом полигоэтиленоксида. Микроструктурирование с различными параметрами проводили на установке двухфотонной полимеризации с помощью фемтосекундного лазерного излучения: изменяли расстояние между отдельными проходами лучей, количество вертикальных слоев и расстояние между ними. Полученные массивы структурных единиц отмывали от остатков несшитого материала и по виду получившихся скаффолдов определяли оптимальные параметры, используемые при дальнейшей работе с композицией. Также на основе синтезированных образцов аллилхитозана послойно выращивали тканеинженерные конструкции на экспериментальном макете лазерного стереолитографа ЛС100 (ИПЛИТ РАН, Россия). Данные экстракт-теста полученных образцов аллилхитозана после стерилизации УФ-излучением показали отсутствие цитотоксичности для клеточной линии L929.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ЖИВОЙ КЛЕТКИ СО СВЕРХВЫСОКИМ РАЗРЕШЕНИЕМ НА ОСНОВЕ КЛАССИЧЕСКИХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ

О. Е. Фурман¹, Н. В. Клементьева², Н. Г. Божанова³, А. С. Мишин^{2, 3}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Высокоразрешающая микроскопия является динамично развивающейся технологией, призванной расширить возможности традиционной флуоресцентной микроскопии за счет преодоления дифракционного предела. Для проведения локализационной микроскопии единичных молекул необходимы специальные фотоактивируемые красители и белки, что может ограничивать область ее применения. Актуальной задачей становится поиск новых флуорофоров, способных к фотопереключению. Цель данной работы заключалась в разработке уникальной методики визуализации ультраструктуры живой клетки с помощью высококоразрешающей микроскопии на основе классических красных флуоресцентных белков.

В ходе работы были протестированы флуоресцентные белки красного диапазона спектра TagRFP и FusionRed. Объектами для визуализации послужили белки актин и актин-связывающий белок альфа-актинин, участвующие в формировании цитоскелета клетки. Эксперименты проводились на клеточных культурах: NIH/3T3 (мышинные фибробласты), СТ26 (мышинная карцинома толстой кишки), HeLa Kyoto (опухоль шейки матки человека). В работе применялись методы культивирования эукариотических клеток, временная трансфекция, микроскопия сверхвысокого разрешения с последующей математической обработкой данных. На первом этапе перед нами стояла задача подобрать условия микроскопии, оптимальные для запуска спонтанного мигания белков TagRFP и FusionRed. Для этого нами были получены линии клеток HeLa Kyoto, временно экспрессирующие химерный белок альфа-актинин, слитый с TagRFP или FusionRed. Визуализация клеток проводилось на микроскопе Nikon Eclipse Ti, оснащенный системой N-STORM и высокочувствительной EMCCD камерой. Были получены серии последовательных изображений флуоресцирующих клеток, в среднем по 3000–5000 кадров. При подборе условий для мигания красных флуоресцентных белков нами варьировались такие параметры как значение TIRF-угла (Total Internal Reflection Fluorescence, флуоресценция полного внутреннего отражения), время экспозиции камеры и мощность лазерного облучения. Эффективный обратимый переход молекул белков TagRFP и FusionRed из темного во флуоресцентное состояние наблюдался при экспозиции камеры 16–50 мс и мощности лазера 5–10%. Данные настройки характеризовались низким фототоксическим эффектом и позволяли проводить длительные эксперименты на образцах с живыми клетками. На основе полученных данных с помощью программного обеспечения rapidSTORM 3.3 были получены реконструкции изображений ультраструктуры актина и актин-связывающего белка – альфа-актина со сверхвысоким разрешением.

Таким образом, в ходе работы была впервые показана возможность использования классических красных флуоресцентных белков в методе высококоразрешающей локализационной микроскопии единичных молекул. Кроме того, были подобраны оптимальные условия для визуализации ультраструктуры живых клеток и получены изображения белков цитоскелета со сверхвысоким разрешением.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 14-25-00129).

МИКРОБНЫЕ СИДЕРОФОРЫ *BACILLUS SUBTILIS*

Г. Ф. Хадиева¹, М. Т. Лутфуллин², Н. К. Мочалова², А. М. Марданова²

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлёвская, 18;
g.h95@mail.ru

Способность обеспечить себя железом является важным механизмом конкурентных взаимоотношений ассоциативных бактерий с фитопатогенной микрофлорой. Железо широко распространено в природе, однако его биодоступность невелика. Бактериальные сидерофоры, хелатирующие железо с образованием устойчивых комплексов, играют важную роль в повышении биодоступности железа. Продукция сидерофоров ризобактериями связана с удовлетворением их потребностей в железе и ингибированием конкурентной микрофлоры за счет образования недоступных для неё Fe-сидерофорных комплексов. В отличие от фитопатогенных микроорганизмов, растения, могут расти при значительно меньших концентрациях железа, чем микроорганизмы. Есть данные, что железо, связанное бактериальными сидерофорами, может ассимилироваться растениями и использоваться ими.

Среди грамположительных микроорганизмов описаны в основном продуценты гидроксаматных сидерофоров, в то время как катехолы идентифицированы у сравнительно небольшого числа представителей данной группы. Среди многочисленных видов рода *Bacillus* известны два сидерофорообразующих: *B. megaterium* – продуцент шизокинина, а также *B. subtilis* – бациллина.

Целью данной работы было выделение и характеристика бактерий – продуцентов сидерофоров. В работе были использованы 3 штамма *B. subtilis* GM 2, 5 и 7, выделенные из ризосферы картофеля и идентифицированные по гомологии генов 16S рРНК. Первоначальный скрининг для обнаружения продукции ими сидерофоров был проведён с использованием агаризованной среды с красителем хром-азурол S (CAS), исходная окраска которого меняется от синего на желтую при связывании хелатирующими агентами ионов железа среды. Рост всех исследуемых штаммов на CAS-агаре сопровождался появлением различных по интенсивности зон изменения цвета индикатора, что указывало на образование бактериями сидерофоров. Бактерии культивировали на среде M9 (г/л: KH_2PO_4 – 3, NaCl – 5, NH_4Cl – 10) с добавлением 20% глюкозы, 1 М MgCl_2 , 0,1 М CaCl_2 и, для полного связывания свободного железа, бипиридила в концентрации 0,2 мкл/мл. Для исследования динамики образования сидерофоров катехольного типа использовали цветную реакцию на катехолы по методу Arnow и Assay. К 50 мкл супернатанта последовательно добавляли 50 мкл 0,5 М HCl , 50 мкл смеси NaNO_2 и Na_2MoO_4 (1 г NaNO_2 + 1 г Na_2MoO_4 + 10 мл воды), 50 мкл 1 М NaOH . Оптическую плотность измеряли при длине волны 490 нм на СЭФ. Появление розовой окраски в исследуемом образце свидетельствовало о наличии сидерофоров катехолового типа. Концентрацию сидерофоров в исследуемом образце определяли по калибровочной кривой, построенной с использованием 2,3-дигидроксibenзойной кислоты. Рост штамма в железodefицитной среде сопровождался накоплением в культуральной жидкости сидерофоров катехольного типа, максимальное содержание которого наблюдалось после выхода культуры на стационарную фазу роста. Штаммы GM 2, 5 и 7 на 24 час культивирования продуцировали 516,3, 338,2 и 293,8 мкМ соответственно.

Таким образом, все исследуемые штаммы *B. subtilis* продуцировали в среду сидерофоры. Максимальную активность проявлял штамм GM 2. Штаммы ризобактерий с высокой продукцией сидерофоров могут быть использованы для разработки биопрепаратов для обеспечения растений необходимым количеством железа в условиях железodefицита и в качестве агентов биоконтроля против фитопатогенов.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной К(П)ФУ для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 14-83).

РАСТИТЕЛЬНОСТЬ ОКРЕСТНОСТЕЙ ГОРОДА СЕМЕНОВА (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Т. Ю. Хлюнева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
hliuneva.t@yandex.ru

Территория Семеновского района уникальна, прежде всего, благодаря своему географическому положению и сложному рельефу. Это проявляется в отношении сформировавшихся здесь почвенно-растительных систем. Растительность характеризуется определенным видовым составом, численностью особей (причём как в отдельных растительных таксонах, так и в целом для рассматриваемой территории) и особенностями сочетания различных растительных таксонов. Изучая состояние растительного покрова, ботаники в первую очередь сталкиваются с обеднением флоры тех или иных регионов. В природоохранных целях очень важно изучать флору и растительность конкретных территорий. Особенно важны в этом отношении леса, так как они имеют большое оздоровительное, водоохранное и противозерозионное значение.

Целью данной работы является изучение растительности окрестностей города Семенов (Нижегородская обл.). Для реализации данной цели были использованы собственные материалы геоботанических исследований лесных массивов, которые проводились в июне – августе 2015 г. В ходе работы проведено 32 геоботанических описания. Геоботанические описания выполнялись по общепринятой схеме с описанием ярусов лесного фитоценоза – древостоя, возобновления, подлеска, травостоя, мохового покрова. При характеристике показателей количественного участия видов в фитоценозе использовалась шкала обилия Браун-Бланке. Использование данной шкалы позволяет достаточно эффективно оценить эколого-ценотическую роль каждого вида в конкретном растительном сообществе.

По ботанико-географическому районированию Нижегородской области, территория исследования относится к Чкаловско-Семеновскому подрайону района темнохвойных лесов. В ходе работы изучены следующие типы лесов: сосновый, березовый и смешанный. Основными ассоциациями сосновых лесов являются Сосняк кисличный, Сосняк черничный, Сосняк травяной. Встречаются сообщества с дубом и берёзой, которые образуют древесный ярус вместе с сосной. К коротко-производным сообществам отнесены 7 ассоциаций различных по площади и условиям произрастания: Елово-Березняк кислично-волосистоосоковый, Березняк волосистоосоковый, Березняк снытевый, Березняк снытево-кисличный, Березняк черничный, Березняк разнотравный и Березняк звездчатково-волосистоосоковый.

Большую часть района исследования занимают темнохвойные и смешанные леса. Здесь произрастает редкое в нашей области растение *Hepatica nobilis*. Выделены следующие ассоциации: Ельник чернично-кислично-сфагновый, Елово-Сосняк чернично-бруснично-зеленомошный, Елово-Березняк чернично-волосистоосоковый, Ельник майниково-кисличный, Кленово-Еловый Дубняк снытевый, Кленово-Липовый Сосняк волосистоосоковый, Дубо-Липо-Ельник кислично-брусничный.

Растительный покров окрестностей города Семенов отличается довольно большим разнообразием. Основным типом растительности являются леса. В результате антропогенного воздействия коренные типы леса на больших площадях заменены коротко-производными мелколиственными лесами, преимущественно березняками.

**ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ЦИСПЛАТИНА НА БЕЛОК-
БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СИСТЕМЕ УБИКВИТИН-ЗАВИСИМОЙ
РЕПАРАЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК**

А. С. Хворостяная¹, А. С. Жаберева^{1, 2}, К. В. Кондратьева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alena.khvorostyanaya@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603081, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 70

Влияние генотоксических соединений на отдельные звенья убиквитин-зависимой репарации ДНК мало изучено. Один из механизмов репарации ДНК – гомологичная рекомбинация (ГР), где ключевую роль играет гетеродимерный комплекс UBE2N/UEV1. В процессе ГР комплекс UBE2N/UEV1 необходим для построения мультиубиквитиновых цепей (МЦ), необходимых для закрепления всего комплекса репарации в месте двухцепочечного разрыва ДНК. Цисплатин (ЦП) – противоопухолевый препарат, повреждающий структуру ДНК клеток. Также показано, что ЦП активно связывается с белками, образуя стабильные комплексы. Целью работы было исследование влияния ЦП на активность комплекса UBE2N/UEV1 *in vitro*.

В процессе исследования также была проведена оценка вовлеченности системы убиквитина в ответе клеток на воздействие ЦП. Материал исследования: реконструированная *in vitro* каталитическая система UBE2N/UEV1 и культура клеток линии HeLa. В работе использовались метод электрофореза белков в ПААГ и Вестерн блоттинг для детекции компонентов системы. Степень генотоксического действия ЦП оценивалась методом ДНК-комет. Белок UBE2N инкубировался с цисплатином из расчета молярных концентраций 10 и 100 молекул ЦП на 1 молекулу белка. Pt-UBE2N аддукт был добавлен в реакционную систему. В присутствии Pt-UBE2N отмечено снижение интенсивности сигнала от МЦ. Так как белок UEV1 является адаптерным белком для UBE2N для формирования МЦ, химическая модификация аминокислот UBE2N в области белковых контактов с UEV1 может препятствовать дальнейшей реакции. С целью оценки вовлеченности системы убиквитина в клеточный ответ на воздействие ЦП, клетки подвергались сочетанному воздействию ЦП и ингибитора протеасом MG132. Было показано, что MG132 не обладает генотоксическим действием. Показано, что цисплатин обладает выраженным генотоксическим действием при всех выбранных концентрациях. При сочетанном действии ЦП и MG132, повреждения ДНК клеток незначительно. В остальных клетках ДНК не повреждена.

Таким образом, доказана способность ЦП связываться с белками системы убиквителирования и нарушать их взаимодействия, препятствуя синтезу МЦ. Также показана вовлеченность системы убиквитина в клеточный ответ на воздействие ЦП, и реализацию токсических свойств ЦП через систему убиквителирования.

БИОТЕСТИРОВАНИЕ СЕЛИТЕБНЫХ ТЕРРИТОРИЙ, СВЯЗАННОЕ С ИНДИКАЦИЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПРОДУКТАХ ПЧЕЛОВОДСТВА

Д. А. Хомутов, В. В. Ягин

Мининский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 7;
kfg.unn@mail.ru

Продукты пчеловодства аккумулируют тяжелые металлы в разной степени. Считается, что больше всего их накапливается в перге, нектаре и прополисе и, в меньшей степени, подвержены загрязнению продукты, продуцируемые самими пчелами (воск, маточное молочко, пчелиный яд. Для получения высококачественной, безопасной для человека продукции пчеловодства необходимо строго соблюдать требования к ее производству, в том числе и к местам размещения пасек, а также проводить оценку качества продукции до и после ее переработки. Особое внимание при размещении пасек следует уделять близости к селитебным территориям, в первую очередь, расстоянию до напряженных автомагистралей. Для оценки данного положения в наших экспериментах пасека размещалась в 50 м от федеральной автомагистрали Нижний Новгород – Киров в окрестностях пос. Рекшино). Содержание тяжелых металлов (Pb, Cd, Sr, Zn и Cu) в меде, прополисе, воске, пчелином яде и телах пчел определяли атомно-абсорбционным методом.

Максимальное количество Pb было обнаружено в образце прополиса с пасеки, расположенной вблизи автомагистрали ($19,0 \pm 2,6$ мг/кг). Аккумуляция Pb отмечалась в образце воска, употреблявшемся в течение 3 лет. В этом случае количество Pb составляло $2,9 \pm 0,3$ мг/кг, при ПДК 0,5 мг/кг. Количество Cd во всех исследованных образцах значительно ниже ПДК и варьирует от 0 до $0,3 \pm 0,01$ мг/кг в образце прополиса. Содержание Sr в продуктах пчеловодства выше, чем Cd и составляет $10,2 \pm 1,4$ мг/кг. Определенная аккумуляция Sr наблюдается в воске, так как в однолетнем воске его содержание составляет $0,2 \pm 0,01$ мг/кг, а в трехлетнем – $1,9 \pm 0,1$ мг/кг. Все исследованные образцы продуктов пчеловодства и тел пчел отличаются высоким содержанием Zn. Исключение составляют показатели однолетнего воска, в котором содержание Zn равно $1,5 \pm 0,04$. ПДК для Zn в меде равно 3,0 мг/кг, максимально допустимый уровень (МДУ) составляет 6,91 мг/кг. Количество Zn в образце меда в 10 раз превышает не только ПДК, но и МДУ. ПДК для Zn в воске составляет 7,3 мг/кг, МДУ – 11,1 мг/кг. Содержание Zn в образце 3-летнего воска значительно выше ПДК и МДУ и составляет $46,1 \pm 2,8$ мг/кг. Максимальное количество Zn содержится в образцах пчелиного яда ($265 \pm 17,2$ мг/кг), а второе место по содержанию Zn занимают образцы тел пчел ($90,2 \pm 5,3$ мг/кг). Биологическая роль Zn связана с его участием в ферментативных реакциях, протекающих в клетках. Он входит в состав важнейших ферментов: карбоангидразы, различных дегидрогеназ, фосфатаз, связанных с дыханием и другими физиологическими процессами, протеиназ и пептидаз, участвующих в белковом обмене, ферментов нуклеинового обмена (РНК- и ДНК-полимераз). Помимо участия в дыхании и нуклеиновом обмене, Zn активизирует деятельность половых желез. Кроме того, многие соединения Zn обладают инсектицидными и фунгицидными свойствами, что характерно для пчелиного яда. В отличие от Zn, содержание Cu в яде невелико, в то время как ее содержание в телах пчел – $32,9 \pm 2,4$ мг/кг. Так же, как и Zn, Cu является необходимым для пчел микроэлементом, так как входит в состав ряда ферментов, влияет на обмен углеводов и минеральных веществ.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что продукты пчеловодства, полученные на пасеках, расположенных вблизи автомагистралей содержат большое количество тяжелых металлов. Высокое содержание Zn в образцах пчелиного яда, являющегося эндогенным полипептидом, можно объяснить с точки зрения эволюции жалоносного аппарата пчел.

АКТИВАЦИЯ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТОЙ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОГО ТРАНСПОРТА K^+ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ

Е. И. Хорошавина, М. В. Дубинин, В. Н. Самарцев

Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;

katya_bs@mail.ru

На изолированных митохондриях печени исследовано действие желчных кислот – гидрофобных: литохолевой, дезоксихолевой, хенодезоксихолевой и гидрофильных: холевого и урсодезоксихолевой (УДХК) как индукторов Ca^{2+} -зависимой проницаемости внутренней мембраны. Показано, что в отсутствие модулятора митохондриальной поры неорганического фосфата (Φ_n) гидрофобные желчные кислоты, а также холевая кислота способны индуцировать набухание митохондрий печени, нагруженных Ca^{2+} , что соответствует литературным данным. Этот эффект полностью устраняется блокатором митохондриальной поры циклоспорином А (ЦсА). Отмечается, что действие исследуемых желчных кислот, как индукторов Ca^{2+} -зависимой ЦсА-чувствительной митохондриальной поры, не связано с модуляцией эффектов Φ_n . Выяснено, что в отличие от других исследованных желчных кислот УДХК способна эффективно индуцировать Ca^{2+} -зависимую ЦсА-чувствительную пору в митохондриях печени только при условии, что в среде инкубации присутствует Φ_n или отсутствует хлорид калия. При наличии хлорида калия в среде инкубации, но без Φ_n , эффекты УДХК, связанные с индукцией проницаемости внутренней мембраны (набухание митохондрий, падение $\Delta\psi$ и выход Ca^{2+} из матрикса), наблюдаются и в присутствии ЦсА. Отмечается, что такая Ca^{2+} -зависимая проницаемость внутренней мембраны, в отличие от «классической» ЦсА-чувствительной поры, характеризуется меньшей интенсивностью набухания митохондрий при полном падении $\Delta\psi$ и выходе Ca^{2+} из матрикса, а также блокируется Φ_n . Предполагается, что индукция УДХК ЦсА-нечувствительной проницаемости внутренней мембраны митохондрий связана с активацией электрофоретического транспорта K^+ в матрикс и выхода Ca^{2+} из матрикса в обмен на H^+ . Обсуждается действие Φ_n как блокатора такой проницаемости.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-00688), Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 1365), а также гранта Марийского государственного университета (№ 2015-006б).

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК В АКВАТОРИИ СЕВАСТОПОЛЯ

В. С. Цилинский, З. З. Финенко

Институт морских биологических исследований РАН, 299011, Севастополь, просп. Нахимова, 2;
tsilinsky@gmail.com

Методы измерения флуоресценции хлорофилла *a* прочно вошли в практику биоокеанологических исследований. Их преимущество состоит в том, что они, не разрушая материал, позволяют быстро и точно определять физиологические характеристики фитопланктона. В этой работе определялись следующие показатели: фотохимическая эффективность фотосистемы 2 (соответствующая доле «открытых» реакционных центров фотосистемы 2 от общего числа реакционных центров) и интенсивность света, насыщающая скорость электронного транспорта. Цель работы – изучить сезонную динамику фотохимической эффективности фотосистемы 2 и радиации, насыщающей скорость электронного транспорта в Севастопольской бухте и на шельфе у Севастополя. Материалом для работы послужили данные мониторинга на трёх станциях в акватории Севастополя в 2013–2014 гг.

Исследования показали, что сезонная динамика активности фотосинтетического аппарата фитопланктона в Севастопольской бухте и на шельфе идентичны. Среднемесячные значения фотохимической эффективности фотосистемы 2 в течение года изменяются в узких пределах и близки к значениям у диатомовых и динофитовых водорослей, выращенных при полной обеспеченности питательными веществами. Из полученных результатов следует, что активность фотосинтетического аппарата не лимитируется концентрацией биогенных веществ. Интенсивность света, насыщающая скорость электронного транспорта, увеличивается от зимы к лету в 7 раз. Летом она совпадает с данными, полученными по измерениям скорости фотосинтеза фитопланктона, а зимой – превышает их.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ВЕКТОРА, НЕСУЩЕГО ГЕН ABD-ДОМЕНА ГЛИЦИЛ-тРНК СИНТЕТАЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Г. В. Чащина¹, Е. Ю. Никонова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *kfg@bio.unn.ru*

²Институт белка РАН, 142290, Московская область, Пущино, ул. Институтская, 4;
katya_nik@vega.protres.ru

Глицил-тРНК синтетаза отличается особенностями функционирования и вариабельностью структуры в разных организмах. Главная роль данного фермента – специфическое аминоацилирование глицина. Недавние исследования показали, что глицил-тРНК синтетаза человека также может являться регулятором инициации трансляции мРНК полиовируса. Цитоплазматическая форма глицил-тРНК синтетазы состоит из трех доменов. Ранее было доказано, что главную роль в инициации трансляции играет антикодон-связывающий (ABD) домен (Andreev et al., 2012). В связи с участием глицил-тРНК синтетазы в инициации трансляции мРНК полиовирусов одной из актуальных задач на данный момент является определение структуры глицил-тРНК синтетазы в комплексе с вирусной мРНК. Целью данной работы было получение экспрессионного вектора, несущего ген ABD-домена глицил-тРНК синтетазы.

Ранее в лаборатории были проведены молекулярно-динамические исследования и стало известно, что изолированный ABD-домен должен иметь стабильную глобулярную структуру, аналогичную его структуре в составе целого белка.

Клонирование гена изолированного ABD-домена было проведено методом Quick Change® с помощью перекрывающихся праймеров. В качестве матрицы использовали плазмиду pET11a-PL, содержащую ген ABD-домена с дополнительной β-шпилькой на N-конце. В соответствии с нуклеотидной последовательностью гена были сконструированы и синтезированы праймеры. С помощью ПЦР были наработаны плазмиды, содержащие искомую мутацию. Компетентные клетки *Escherichia coli* (штамм XL1 blue) трансформировали полученными плазмидами. Из выросших колоний выделяли плазмидную ДНК. Наличие необходимой замены и отсутствие других нежелательных мутаций проверяли секвенированием.

В ходе проделанной работы была получена генетическая конструкция, несущая ген изолированного ABD-домена глицил-тРНК синтетазы человека. В дальнейшем эта конструкция будет использована для наработки и выделения ABD-домена глицил-тРНК синтетазы человека в препаративных количествах для последующей кристаллизации в комплексе с фрагментом вирусной мРНК.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 15-14-00028.

СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ПОДОРОЖНИКА СРЕДНЕГО В УСЛОВИЯХ РАЗНОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ

А. С. Чернядьева, Е. А. Скочилова

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
tchernyadieva.anyuta@yandex.ru

Целью исследования являлось изучение содержания хлорофиллов в листьях подорожника среднего (*Plantago media*) в условиях разной освещенности. Подорожник средний относится к лесной эколого-ценотической группе. Жизненная форма – многолетнее, травянистое, поликарпическое, короткокорневищное, стержнекорневое растение, гемикриптофит. Исследуемые растения *P. media* произрастали в травяном сообществе, в окрестностях искусственного водоема. Нами было выбрано 2 участка, различных по освещенности. Растения, на первом участке, произрастали на берегу водоема в условиях полной солнечной освещенности, освещенность составляла 60–65 тыс. лк (световой вариант), особи на втором участке находились в густом травостое при освещенности 20–25 тыс. лк (теневого варианта). Освещенность измеряли люксметром. На участках, различных по освещенности, произвольно закладывали по 3 площадки размером 50x50 см. На пробной площади растения выкапывали и определяли онтогенетические состояния по признакам-маркерам, согласно концепции дискретного описания онтогенеза. В листьях виргинильных (v), молодых генеративных (g_1) и средневозрастных генеративных (g_2) растений определили содержание хлорофиллов спектрофотометрическим методом на СФ ПромЭкоЛаб ПЭ-5400В в ацетоновых вытяжках. Установив концентрацию пигмента в вытяжке, определяли его содержание в исследуемом материале, мг/г сырой массы. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Достоверность различий оценивали по распределению Стьюдента на доверительном уровне 95%.

Нами выявлено влияние различных световых условий на содержание зеленых пигментов в листьях *P. media*. Содержание хлорофилла *a* в 1,2–1,3 раза больше в листьях v и g_1 растений, произрастающих в условиях затенения, по сравнению с условиями полной солнечной освещенности ($p < 0,05$). Аналогично изменялось и содержание хлорофилла *b* в листьях *P. media*. В онтогенетическом состоянии v содержание хлорофилла *b* в листьях растений на затененном участке в 1,5, в g_1 – в 1,7 раза больше, по сравнению с освещенным участком ($p < 0,05$). В состоянии g_2 по содержанию хлорофиллов *a* и *b* между вариантами статистически значимых различий не обнаружено ($p > 0,05$). Следовательно, суммарное количество зеленых пигментов у виргинильных и молодых генеративных растений было выше в 1,3–1,4 раза в теневом варианте, по сравнению со световым вариантом ($p < 0,05$). У g_2 растений по сумме хлорофиллов между вариантами освещенности статистически значимой разницы не обнаружено. Проанализировав отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* между вариантами освещенности, можно заключить, что в условиях затенения в листьях v и g_1 растений увеличение хлорофиллов произошло за счет хлорофилла *b*, так как отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* в 1,3 раза ниже в этом варианте по сравнению с условиями полной солнечной освещенности, что можно рассматривать как ответную реакцию на затенение.

Таким образом, проведенное исследование показало, что растения *P. media*, произрастающие в условиях затенения, в онтогенетических состояниях v и g_1 имеют наибольшее содержание хлорофиллов *a* и *b*. Увеличение хлорофиллов в листьях этих растений произошло за счет увеличения доли хлорофилла *b*, что подтверждается более низким отношением хлорофилла *a* к хлорофиллу *b*. Растения, находящиеся в онтогенетическом состоянии g_2 , не имеют статистически значимой разницы по количеству зеленых пигментов между вариантами освещенности.

РАЗРАБОТКА И СОЗДАНИЕ БАКТЕРИОМИКРОЭЛЕМЕНТНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО РАСТЕНИЕВОДСТВА

У. Е. Четкина, Е. А. Черняева, Л. Л. Мусеева, И. С. Белякова, М. С. Гаряева
Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Krylov_evg@list.ru

Обязательным условием реализации растениями своего биологического потенциала является сбалансированное питание различными эссенциальными и микроэлементами, которые участвуют в ключевых процессах метаболизма. При дисбалансе микроэлементного питания рост растений отклоняется от нормы или прекращается, нарушается их дальнейшее развитие, что приводит к заболеваниям и даже к гибели. В конечном итоге, растения дают низкий и не всегда качественный урожай. Основным направлением решения этой проблемы является применение в сельскохозяйственном растениеводстве микроэлементных удобрений. При этом прогнозируется, что мировой рынок микроудобрений к 2020 г. составит 7,59 млрд. долларов США, а среднегодовой рост его в период 2014–2020 гг. – 8,2% (доклад «Transparency Market Research», 2014).

Сдерживающими факторами в реализации данного направления являются недостаточность использования биологического потенциала микроэлементов в составе микроэлементсодержащих препаратов, их невысокая технологичность и доступность (экономическая). К тому же, в мировой практике отсутствуют препараты с выраженными фунгицидными свойствами, которые, кроме реализации присущих им функций, эффективно решают задачу защиты растений от грибковых заболеваний и, в то же время, не оказывают дополнительной нагрузки на окружающую среду. Из-за этого приходится применять химические фунгициды, что приводит к снижению технологичности и повышению расходов, риску загрязнения окружающей среды и сельскохозяйственной продукции. Нами предложен способ решения указанных проблем – путем синтеза полимерных композиций, включающих микроэлементную и бактериальную составляющие и совмещающих их лучшие качества, а с другой стороны, получаемых с использованием вторичного сырья.

Разработан принципиальный способ синтеза таких бактериомикроэлементных полимерных композиций. При этом сначала синтезируется полимерная матрица (основа композиций) и в ее функциональные группы вводятся ионы эссенциальных микроэлементов (Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+}), а затем внедряются, совместимые с такой микроэлементной матрицей, штаммы специфичных бактерий. В качестве последних нами выбраны штаммы ризосферных бактерий *Bacillus subtilis*, изначально способные стимулировать рост растений, подавлять развитие фитопатогенных грибов и бактерий, являющихся возбудителями болезней растений. Проведена серия первичных лабораторных испытаний действия композиций, нанесенных на поверхность семян яровой пшеницы (предпосевная обработка) в виде тонкой бактериомикроэлементной полимерной пленки, которая показала обнадеживающие результаты. В частности, выявлено достоверное увеличение энергии прорастания и всхожести семян (на 1,8%), их сохранности к концу вегетации растений (на 3,9%) по сравнению с контрольным вариантом.

В ближайшее время (2016–2018 гг.) планируется продолжение исследований по подбору наиболее эффективного состава композиций (соотношению и концентраций полимера, ионов микроэлементов и бактерий), метагеномному анализу бактериальной составляющей композиций, выявлению степени антагонистической активности бактериомикроэлементных полимерных композиций в отношении фитопатогенов, повышению устойчивости растений к засухе и заморозкам, выявлению возможности сдвига сроков их вегетации, созданию технологии синтеза композиций, полевых и производственных испытаний.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА IL-2R α В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А. А. Чиркунова, Д. В. Новиков, С. Г. Фомина, В. В. Новиков

НИЦ МБМ Университета Лобачевского, 603005, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д;
anastasiyachirkunova93@mail.ru

Рак молочной железы (РМЖ) признан Всемирной Организацией Здравоохранения как одна из лидирующих причин смертности женщин в возрасте от 20 до 59 лет. Исследования показывают, что при РМЖ преобладание CD4+CD25+ регуляторных Т-клеток возрастает не только в периферической крови, но и в микросреде опухоли. Уровень экспрессии альфа-цепи рецептора IL2 (IL-2R α) является «ранним» маркером активации лимфоцитов, отражающей их способность к пролиферации и дифференцировке, пригодной для мониторинга эффективности противоопухолевого лечения. Кроме этого, высокая экспрессия IL-2R α в опухолях различной локализации ассоциирована с повышенной пролиферацией раковых клеток и неблагоприятным прогнозом для больного. Целью настоящей работы явилась характеристика экспрессии мРНК IL2R α в опухолевых очагах больных РМЖ.

В ходе работы исследовано 40 образцов опухолевых очагов больных РМЖ, предоставленных ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ. Нуклеиновую кислоту выделяли из клинического материала методом экстракции с использованием 4М гуанидин тиоционата и смеси фенола с хлороформом. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием рэндом-праймеров. Уровни экспрессии мРНК оценивали с помощью метода обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (ОТ-ПЦР). В одной пробирке проводили реакцию для детекции уровней мРНК IL-2R α и мРНК гена домашнего хозяйства. Использовали гены домашнего хозяйства: бета-2-микроглобулин, гипоксантин фосфорибозилтрансфераза 1 и тирозин 3-монооксигеназа/триптофан-5-монооксигеназа активационный протеин зета. Уровни исследуемых мРНК оценивали методом сравнения пороговых циклов с учетом эффективности реакции ($\Delta\Delta C_t$). Полученные результаты анализировали с использованием программ: «REST», «Excel» и «GraphPad Prism».

Установлено, что в опухолевых очагах больных РМЖ мРНК IL-2R α была идентифицирована у 33 пациентов, что составило 82,5%. Сравнение относительного содержания мРНК гена IL-2R α в опухолевых очагах больных РМЖ показало отсутствие статистически значимых различий в уровнях экспрессии у больных в зависимости от возраста и наличия региональных и удаленных метастазов. Исследуемые образцы также были разделены на две группы по наличию мРНК MUC1, являющегося маркером неблагоприятного прогноза течения РМЖ. При сравнении уровней экспрессии IL-2R α в MUC1 положительных и отрицательных образцах опухолевых очагов, установлена тенденция к повышению уровня IL-2R α в MUC1 положительных опухолевых очагах. Данная тенденция была подтверждена при сравнении уровней мРНК IL-2R α относительно трех используемых генов домашнего хозяйства, однако была статистически не значима.

Таким образом, установленная тенденция к увеличению уровня экспрессии мРНК IL-2R α может свидетельствовать как о повышенном содержании регуляторных Т-клеток в исследуемых опухолях, так и о большей пролиферативной активности раковых клеток в MUC1 положительных опухолевых очагах больных РМЖ.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОСТНОГО МОЗГА АМФИБИЙ НА ТЕРРИТОРИИ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

К. В. Шаповалова, И. А. Марьин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

kristin.shapovalova@gmail.com, shining1234@yandex.ru

Оценка состава костного мозга, выполняющего у амфибий отряда Anura функцию главного поставщика кроветворных элементов для формирования Т- и В-клеточных популяций, позволяет исследовать ответные реакции амфибий на комплекс природных и антропогенных факторов. Цель работы – дифференцированная оценка клеток миелоидного и эритроидного рядов костного мозга озерной (*Pelophylax ridibundus*) и травяной лягушек (*Rana temporaria*), обитающих в качественно разных биотопах Нижегородской области. Объектами исследования послужили выборки из популяций озерных и травяных лягушек на территории Нижнего Новгорода и Нижегородской области в разной степени подверженных действию урбанизации и загрязнения (оз. Парковое, оз. Свято, территория п. Афонино). Подсчет дифференцированных клеток в процентах проводили по окрашенным микропрепаратам с последующим расчетом интегрального индекса сдвига миелограммы. Статистический анализ осуществляли с помощью непараметрических критериев Крускала-Уоллиса и Дана, за уровень значимости принимали $p=0,05$.

Выявлено изменение долей клеток разных ростков костного мозга в зависимости от вида лягушек и места их обитания. Так, у озерных лягушек (оз. Парковое, Нижний Новгород, Автозаводский район) наблюдался сдвиг миелограммы в сторону возрастания числа клеток эритроидного ряда, что, по-видимому, связано с активацией процессов кроветворения в условиях урбанизации и загрязнения. Корреляционный анализ по Спирмену выявил для клеток миелоидного ряда (промиелоциты, миелоциты и метамиелоциты) положительную связь с индексом сдвига миелограмм ($r=0,73$, $p=0,002$; $r=0,62$, $p=0,014$; $r=0,68$, $p=0,005$, соответственно). Отметим, что для клеток эритроидного ряда (базофильные нормоциты) установлена сильная отрицательная корреляция с интегральным показателем миелограммы ($r=-0,86$, $p<0,001$). Преобладающими клетками в костном мозге озерных лягушек в оз. Свято оказались клетки миелоидного ряда. Сдвиг миелограммы амфибий в сторону миелоидного роста мог быть вызван, как паразитарными инвазиями, так и повышением в водоеме содержания сульфатов, хлоридов и общего железа. Наиболее зрелые клетки костного мозга миелоидного ряда – метамиелоциты, обнаружили умеренную положительную связь с промиелоцитами ($r=0,70$, $p=0,024$) и отрицательную умеренную связь с миелоцитами ($r=-0,69$, $p=0,024$). Доля промиелоцитов и метамиелоцитов в составе костного мозга определяла повышение индекса сдвига миелограмм ($r=0,81$, $p=0,004$ и $r=0,67$, $p=0,033$, соответственно). Среди клеток эритроидного ряда высокая положительная связь выявлена для нормоцитов базофильных и полихроматофильных ($r=0,90$, $p<0,001$). Вклад этих клеток в изменение индекса миелограмм был статистически не значим, при этом умеренная отрицательная связь установлена для молодых незрелых клеток эритроидного ряда, определяющих снижение интегрального показателя ($r=-0,74$, $p=0,014$). Повышенная доля миелоцитов и клеток эритроидного ряда в миелограммах обуславливали высокий адаптивный потенциал и устойчивость травяных лягушек к условиям урбанизированного ландшафта. Наибольший вклад в изменение индекса миелограммы вносили миелобласты ($r=-0,57$, $p=0,026$), промиелоциты ($r=0,66$, $p=0,007$) и эритробласты ($r=-0,79$, $p<0,001$).

Полученные результаты демонстрируют разные возможности гемопоэтической системы двух видов амфибий при загрязнении среды обитания и расширяют подходы к обобщенной оценке состояния экосистем.

Н⁺-АТФаза ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ УЧАСТВУЕТ В РАЗВИТИИ ВЫЗВАННОГО ВАРИАБЕЛЬНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ ОТВЕТА ФОТОСИНТЕЗА

О. Н. Шерстнева, Е. Н. Морозова, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sherstneva-oksana@yandex.ru

Развитие переменного потенциала (ВП) в ответ на повреждающее воздействие может вызывать функциональные ответы в растении, в том числе, изменение активности фотосинтеза. Известно, что ВП может вызывать кратковременное подавление фотосинтеза; однако, механизм такого влияния остаётся дискуссионным. Целью данного исследования был анализ участия Н⁺-АТФазы в фотосинтетическом ответе, вызванном ВП, у гороха посевного (*Pisum sativum*).

Эксперименты проводились на 2-3-недельных проростках гороха посевного. Переменный потенциал (ВП) индуцировался ожогом открытым пламенем. Электрическая активность регистрировалась с помощью стандартной электрофизиологической установки с экстраклеточным отведением. Исследование параметров фотосинтеза осуществлялось с помощью измерительной системы, включающей РАМ-флуориметр Dual-РАМ-100, газоанализатор GFS-3000 и измерительный блок Dual-РАМ gas exchange Cuvette 3010-Dual.

Было показано, что ВП, индуцированный ожогом листа, вызывал снижение уровня ассимиляции СО₂ и квантовых выходов фотосистем I и II, а также рост нефотохимического тушения у проростков гороха, что отражает снижение фотосинтетической активности у растения. Ратиометрический анализ изменений рН с использованием рН-чувствительных флуоресцентных зондов показал увеличение рН апопласта 0,22±0,02 (при рН в покое 5,7±0,1) и снижение рН цитоплазмы на 0,30±0,05 (при рН в покое 7,1±0,2) при развитии ВП, что говорит о вероятной инактивации Н⁺-АТФазы плазматической мембраны. Для анализа влияния ингибирования и активации Н⁺-АТФазы на вызванный ВП фотосинтетический ответ производилась предобработка листа гороха ортованадатом и фузикокином, соответственно. Предобработка ортованадатом (500 мкМ) заметно снижала амплитуду ВП и значительно уменьшала величину изменений фотосинтетических параметров. После обработки фузикокином (1 мкМ) не наблюдалось существенных изменений параметров ВП, однако достоверно возрастала амплитуда ответа ассимиляции СО₂, а также имела тенденцию к росту величина изменений нефотохимического тушения. Таким образом, инактивация Н⁺-АТФазы плазматической мембраны является весьма вероятным механизмом развития, вызванного ВП ответа фотосинтеза у проростков гороха. Исследование влияния ортованадата натрия на параметры фотосинтеза в модельной системе – суспензии изолированных протопластов – показало, что в ответ на добавление ортованадата происходит рост нефотохимического тушения и снижение квантовых выходов фотосистем I и II.

Таким образом, снижение активности Н⁺-АТФазы играет большую роль в развитии вызванного ВП фотосинтетического ответа. Такой ответ может быть опосредован изменениями рН апопласта и цитоплазмы. Защелачивание апопласта, вероятно, меняет активность карбоангидраз и/или аквапоринов, а также соотношение СО₂/НСО₃⁻. Влияние снижения рН цитоплазмы на фотосинтез может проявляться в закислении стромы и люмена хлоропластов, что может приводить к усилению нефотохимического тушения флуоресценции, изменению локализации и активности ферредоксин-НАДФ-редуктазы, а также ингибированию ряда ферментов цикла Кальвина. Конечным итогом этих процессов является переходная инактивация фотосинтеза.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект №14-26-00098).

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОВАЗКОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК СТ26 В ИССЛЕДОВАНИЯХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

***Д. Е. Шимолina*^{1, 2}, *М. В. Ширманова*², *М. К. Куимова*³, *Л. Г. Клапшина*⁴, *Е. В. Загайнова*²**

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ, 603005,
Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1; *shimolina.l@mail.ru*

³Имперский колледж Лондона, SW7 2AZ, Южный Кенсингтон, Лондон, Великобритания

⁴Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603950, Нижний Новгород,
ГСП-445, ул. Тропинина, 49

Вязкость является одним из ключевых параметров, определяющих физиологическое состояние клетки, поскольку ее изменение может быть связано с серьезными нарушениями морфологического или физиологического состояния клетки. На сегодняшний день вязкость опухолевых клеток изучена слабо. Измерение микроразности в живых клетках в реальном времени стало возможно благодаря появлению метода FLIM (Fluorescence Life-time Imaging Microscopy) и флуоресцентных молекулярных роторов. Целью работы было изучение биораспределения молекулярного ротора BODIPY-C10, солюбилизованного полимерными щетками, у мышей с опухолью СТ26 и анализ микроразности клеток СТ26 *in vitro* и *in vivo*.

Исследование проводилось на мышах линии Balb/c с привитой опухолью СТ26. Для получения опухолей клеточную суспензию СТ26 вводили животным подкожно в прививочной дозе 500 тысяч клеток в 100 мкл соляно-фосфатного буфера PBS. Доза внутривенно введенного молекулярного ротора составила 5 мг/кг. Флуоресцентный имиджинг осуществлялся *in vivo* на установке IVIS-Spectrum (Caliper Life Sciences, США) до введения ротора, через 10 мин, 1, 2, 5, 24, 48, 72 и 144 часа после инъекции. Флуоресценцию ротора возбуждали на длине волны 500 нм, сигнал принимали на 540 нм. Для флуоресцентной микроскопии с временным разрешением использован многофотонный томограф MPTflex (JenLab, Германия). Двухфотонное возбуждение флуоресценции проводили на длине волны 800 нм, регистрацию – в диапазоне 409–680 нм. Микроскопические изображения опухоли получали *in vivo* в течение первых 5 ч и через 24 ч после инъекции. Оценка микроразности мембраны и цитоплазмы клеток СТ26 *in vitro* методом FLIM проводилась при концентрации раствора ротора 8,9 нМ и времени инкубации 7 минут.

По результатам исследования микроразности опухолевых клеток линии СТ26 *in vitro* было установлено, что вязкость цитоплазматической мембраны составила 375 сП, а вязкость внутриклеточного содержимого – 252 сП. В исследованиях *in vivo* было показано, что максимум накопления ротора BODIPY-C10 в опухолевой ткани отмечается через 6 ч после внутривенной инъекции. Через 144 ч флуоресценция ротора в опухоли снижалась до фонового значения, что указывает на выведение из нее исследуемого соединения. Среди нормальных тканей наиболее высокое накопление ротора отмечено в печени и кишечнике. Характерная вязкость опухолевых клеток, измерения через 4 ч после введения ротора в организм животного, составила 257 сП, что согласуется с данными *in vitro*. Отмечено накопление ротора в соединительной ткани опухоли, вязкость которой составила 348 сП. Следует подчеркнуть, что прижизненный анализ микроразности опухолевой ткани с помощью молекулярного ротора на основе BODIPY выполнен впервые в мире.

Работа поддержана РФФИ (проект № 15-02-05189).

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКИХ И НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ GDNF, А ТАКЖЕ ВОЗМОЖНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ИХ РЕАЛИЗАЦИИ

Т. В. Шишкина^{1,2}, Т. А. Мищенко^{2,1}, Е. В. Митрошина^{2,1}, Т. А. Астраханова¹, М. В. Ведунова^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

schischkina.tatiana2012@yandex.ru

Гипоксия, возникающая при травмах, хирургических вмешательствах, нарушении кровоснабжения головного мозга в следствии ишемии, приводит к целому каскаду патохимических реакций. Активно идет поиск веществ эндогенного происхождения, способных частично нивелировать негативные последствия гипоксии. Нейротрофические факторы широко распространены в головном мозге и играют значительную роль в развитии, функционировании, поддержании целостности нейронных ансамблей. В настоящее время исследователей по всему миру интересует вопрос о возможности терапевтического применения нейротрофических факторов при различных патологиях нервной системой. Особый интерес в данном вопросе вызывает изучение полифункционального белка глиального нейротрофического фактора (GDNF).

Материалом для исследований служили первичные культуры клеток гиппокампа, полученные от 18-дневных мышинных эмбрионов. Для изучения нейропротекторных и антигипоксических свойств GDNF на 14 день развития культуры производилось моделирование острой нормобарической гипоксии.

Проведенные исследования показали, что моделирование острой гипоксии приводит к резкому увеличению числа мертвых клеток в культуре (в 4,5 раза), и как следствие, к полному угнетению спонтанной биоэлектрической активности нейронных сетей к 7 дню постгипоксического периода. Кроме того, была выявлена тенденция к упрощению внутренней структуры нейронной сети первичной культуры клеток гиппокампа в следствии гипоксии и достоверное увеличение времени передачи сигнала (более чем в 4 раза, $p < 0,05$ ANOVA). Превентивное добавление GDNF 1 нг/мл нивелирует отрицательные последствия гипоксии, повышая устойчивость клеток и сохраняя основные показатели спонтанной биоэлектрической активности, а также способствует сохранению сложной архитектуры сети, ее основных хаббов. Однако время передачи импульсов остается достоверно выше ($p < 0,05$ ANOVA), чем в интактной группе. Прижизненная детекция мРНК GluR2 субъединицы AMPA-рецепторов показала, что GDNF способен стимулировать синтез мРНК GluR2 в условиях нормоксии. Моделирование гипоксии вызывает снижение числа клеток экспрессирующих мРНК GluR2. Превентивное введение GDNF 1 нг/мл при моделировании гипоксии способствует сохранению количества клеток экспрессирующих мРНК GluR2.

Таким образом, влияние GDNF на экспрессию одной из основных субъединиц AMPA-рецепторов, предполагает его участие в синаптической пластичности и может рассматриваться как один из ключевых механизмов реализации нейропротекторного действия, направленного на поддержание жизнеспособности, функциональной активности нервных клеток, а также сохранение сложной архитектуры нейронной сети и ее ключевых звеньев.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы" Минобрнауки России (уникальный идентификатор соглашения Project ID RFMEFI60715X0117).

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ *IN VITRO*

О. О. Школа¹, Е. Н. Горшкова¹, Г. А. Кравченко¹, Е. А. Василенко¹, Г. А. Ефимов^{1, 2},
Ф. Н. Розов^{1, 3}, С. А. Недоспасов¹⁻³

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; oks.shk@mail.ru

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991, Москва, ул. Вавилова, 32

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119234, Москва, Ленинские горы 1/12

Фактор некроза опухоли (TNF) – многофункциональный провоспалительный цитокин, синтезируемый в основном моноцитами и макрофагами. Он считается посредником для широкого спектра эффекторных функций, имеющих отношение к патогенезу аутоиммунных заболеваний (например, ревматоидного артрита). Поэтому TNF является основной мишенью в терапии таких заболеваний.

Хотя препараты-ингибиторы TNF успешно применяются в терапии, системная блокировка TNF зачастую приводит к нежелательным побочным эффектам, которые обусловлены ролью этого цитокина в развитии иммунного ответа. В аутоиммунном воспалении главную роль играет TNF, синтезируемый макрофагами, поэтому актуальной задачей является разработка новых белков-блокаторов, способных связывать только макрофагальный TNF. Целью настоящей работы стало определение *in vitro* активности биспецифических белков, созданных на основе верблюжьего наноантитела (VNH): BV1, способного связывать TNF на поверхности макрофагов, а также BV1-C и BV1-mut, проявляющих TNF-связывающую активность на системном уровне.

Белки были выделены из трансформированного штамма *Escherichia coli* (Rosetta2(DE3)pLysS) и очищены с помощью жидкостной аффинной хроматографии. Для определения способности этих белков связывать и блокировать активность TNF *in vitro* в экспериментах использовали клеточную линию WEHI-164, представляющую собой клетки фибросаркомы мышей, чувствительные как к мышинному, так и к человеческому TNF. Активность белков определяли с помощью МТТ-теста – колориметрического теста, основанного на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать желтый тетразолий до синего кристаллического формазана, растворимого в диметилсульфоксиде. Для этого сначала определяли дозы, в которых экзогенный TNF (вводимый извне) вызывал 100% гибель клеток, а затем в ходе экспериментов определяли концентрации белков, при которых наблюдалась 50% выживаемость клеток (LD₅₀) при введении летальной дозы TNF. Для BV1 LD₅₀ составила 4,295·10⁶ pM, для BV1-C – 1,197·10⁷ pM и для BV1-mut – 1,413·10⁷ pM.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства РФ и Министерства образования и науки РФ (грант № 14.Z50.31.0008) и гранта РФФИ №16-34-00561 мол_а.

УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СДВИГОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

Д. Д. Шнейдман¹, А. А. Саранкин¹, И. Ю. Демин¹, Т. Б. Крим²

¹Университет Лобачевского, радиофизический факультет, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23/4; sddm@inbox.ru

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет

Известно, что скелетные мышцы играют очень важную роль в процессе функционирования опорно-двигательного аппарата человека. Также основной функцией скелетных мышц является преобразование химической энергии в механическую, чтобы двигаться и совершать действия за счет силы. В последние годы уделяется большое внимание (теоретические и экспериментальные научные работы) способности мышц перераспределять энергию удара во времени и пространстве и разгружать скелетные суставы, что имеет ключевое значение в физической (спортивной) деятельности человека, такой как бег, игра в подвижные игры, прыжки и борьба.

Исследование вязкоупругих свойств мышц сосредоточено на характеристике упругого поведения, в большей степени пренебрегая вязкой составляющей. Современные методы, оценивающие механические функции мышц, такие как миотонометрия, динамометрия и эргометрия не предназначены для оценки упругости и вязкости внутренних тканей. Поэтому очень важно использовать современные ультразвуковые методы для изучения акустических характеристик скелетной мышцы (упругих и диссипативных), которые несут важную диагностическую информацию о функциональном состоянии мышц и их патологиях.

В настоящей работе представлены результаты экспериментального исследования сдвиговых волн в анизотропных вязкоупругих средах, а именно в скелетных мышцах, где анизотропия упругих свойств обусловлена ориентацией мышечных волокон. Все измерения были проведены в лаборатории «Биомедицинских технологий, медицинского приборостроения и акустической диагностики (МедЛаб)» (кафедра акустики радиофизического факультета ННГУ им. Н.И. Лобачевского) с использованием акустической системы Verasonics с открытой архитектурой, которая позволила исследовать сдвиговые характеристики (скорость сдвиговой волны и модуль сдвига) в изготовленных модельных образцах и в образцах из реальной мышечной ткани животных. В процессе экспериментальных исследований были измерены скорости и затухания сдвиговой волны для различных ориентаций ультразвукового датчика (вдоль и поперек волокон мышцы) и в зависимости от видов нагрузки (мышца свободная и напряженная под различной нагрузкой).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (16-32-50001 мол_нр).

**МЛЕКОПИТАЮЩИЕ ПРИГОРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ РЕСПУБЛИКИ МАРИЙ ЭЛ
*Т. М. Шонгина¹, В. И. Дробот¹, В. А. Чемяков¹, В. В. Дробот²***

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119991, Москва, ул. Ленинские Горы, 1; *drobot58@gmail.com*

Материалом для настоящей работы послужили результаты зимних маршрутных учетов млекопитающих, которые проводились в лесопарковой зоне Йошкар-Олы. Цель работы заключалась в анализе современного состояния популяций млекопитающих пригородной зоны. Изучался видовой состав, численность и плотность населения животных. Учеты проводились двукратно в январе и феврале 2016 г. на двух постоянных маршрутах общей протяженностью 15,5 км. Площадь охваченной учетами территории составила 1200 га. Лесопарковая зона города представляет собой антропогенно трансформированную, многокластерную территорию. В различных участках она граничит с жилой и промышленной зонами, с территориями садоводческих товариществ, автомобильными дорогами. На территории лесопарка находится большое количество линейных объектов: железная дорога, 3 просеки ЛЭП, газопровод. Кроме того, через территорию лесопарка проложены мелиоративные каналы, лыжные трассы, дорожно-тропиночная сеть. Лесопарковая зона является рекреационной территорией, активно используемой жителями столицы в течение года. Важной естественной преградой для многих животных является река Малая Кокшага, незамерзающая в зимний период на значительном протяжении лесопарка.

По результатам учетов установлено обитание 7 видов млекопитающих, 4 отрядов, 5 семейств: заяц-беляк, белка обыкновенная, лисица обыкновенная, куница лесная, хорь лесной, горноста́й, кабан. По сравнению с предыдущими исследованиями не обнаружены волк, норка американская, ласка и лось. Анализ направлений перемещений животных по территории лесопарка дает возможность утверждать, что на учетной площади обитают 5 зайцев, 6 белок, 3 лисицы, 2 куницы, 4 горноста́я, 1 хорь, 3 кабана. Сравнение с официальными данными учетов, проводимых в охотничьих угодьях Республики Марий Эл, показывает, что плотность населения учтенных видов в лесопарковой зоне выше. Так плотность населения лисицы в наших учетах составила 2,5 особи/1000 га, что в 2,3 раза превышает данные охотхозяйств. В 2,1 раза выше плотность куницы (1,7 особи/1000 га), в 1,9 раза – кабана (2,5 особи/1000 га), в 1,2 раза – белки (5,0 особей/1000 га). Обращает на себя внимание высокая плотность горноста́я – 3,3 особи/1000 га. Это в 66 раз выше средних показателей по республике. Установлен высокий показатель плотности зайца-беляка (4,2 особи/1000 га), тем не менее он оказался в 1,6 раза ниже чем в охотхозяйствах республики. В отношении хоря лесного следует отметить, что этот вид встречается на обследованной территории нерегулярно, хотя показатель плотности составил 0,8 особи/1000 га. Это в 13,3 раза выше, чем средняя плотность в охотничьих угодьях республики.

Таким образом, зооценоз лесопарка характеризуется не только значительным разнообразием видов млекопитающих, типичных для лесных экосистем Республики Марий Эл, но и высокими показателями их численности несмотря на значительное количество негативных факторов антропогенного характера.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА МОДЕЛИ ОПУХОЛИ РАКА ПЕЧЕНИ КРЫС РС-1

Н. А. Шумаева, Л. В. Крыжановская

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *kfg@bio.unn.ru*

Поиск новых и повышение эффективности применяемых методов лечения онкологических заболеваний является важнейшей задачей современной медицины. В настоящее время повышенное внимание в практической онкологии уделяется физическим методам, которые в комбинированном применении с химиолучевым лечением способны улучшить результаты лечения онкологических больных. Одним из таких методов является общесистемная магнитотерапия вихревым магнитным полем (МП). Установлено, что МП вызывают магнитогидродинамическую активацию биосреды. При этом, согласно концепцией афферентного синтеза, как механизма, составляющего физиологическую структуру функциональной системы (по П. К. Анохину), поля модулирует устойчивость системы организма к окружающей среде. Исследователями показано повреждающее действие ВМП на опухолевые клетки *in vitro* и *in vivo*, наличие ингибирующего эффекта на синтез ДНК опухолевых клеток в культуре, и выраженного противоопухолевого действия на перевиваемые штаммы некоторых опухолей экспериментальным животным. Целью данной работы являлось изучение влияния импульсного МП малой интенсивности на модели альвеолярного рака печени РС-1 у крыс.

Действие импульсного МП в течение 30 мин при величине магнитной индукции 1,5 мТл на установке «УМТИ-3ФА» не позволило выявить торможение роста опухоли РС-1. Известно, что вариабельность сердечного ритма изучается путем регистрации реакций организма, в ответ на тест раздражитель, связанный с барорефлекторным контролем и активностью ядер блуждающих нервов. Они в оценке показателей ВСР в базальных условиях дают возможность оценить не только уровень, но и гибкость регуляции, а также оценить вклад симпатической и парасимпатической составляющих в мощность его средне- и высокочастотного звеньев. Установлено, что у контрольной группы крыс опухоленосителей вегетативные реакции организма незначительно изменились по сравнению с интактной группой. Анализ ВСР у животных контрольной группы (тест на ортостатическую неустойчивость) выявил нарушение адаптации организма крыс. Показано, что у крыс опухоленосителей контрольной группы вегетативные реакции организма изменяются незначительно. Парасимпатический индекс HF% достоверно увеличился в 1,4 раза при нагрузочном тесте краткосрочной иммобилизации. Также, что магнитное поле при действии на крыс опухоленосителей вызывает снижение индексов симпатической реакции. Достоверно уменьшались индексы LFn, LF/HF. В тоже время наблюдалось снижение индекса гуморальной регуляции. Достоверно уменьшился индекс VLF. Для выяснения роли МП в процессах торможения – развития опухоли, необходимо дальнейшее исследование.

СРЕДСТВА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. В. Шумилова, Е. С. Филиппенко, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shumilowanastya@gmail.com

В основе черепно-мозговой травмы (ЧМТ), как и других патологических процессах, лежит развитие стресса. Наиболее значимыми показателями стрессовой реакции является электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) и активность липопероксидации, оцениваемая по содержанию малонового диальдегида (МДА). Кроме того, многочисленными исследованиями установлено, что активация свободно-радикальных процессов, имеющая лавинообразный характер и сопряженная с перекисным окислением липидов (ПОЛ) биомембран, также сопровождает все патологические процессы, в основе которых лежит гипоксия, в том числе и при ЧМТ. Поэтому при лечении ЧМТ необходим поиск таких препаратов, которые влияют не только на предотвращение гипоксии мозга, улучшение обменных процессов, восстановление активной умственной деятельности, нормализации эмоциональных и вегетативных проявлений, но и на степень активности стресс-реализующих систем. Цель исследования – оценить в эксперименте эффективность мексикора и препарата сравнения цитофлавина в отношении выраженности активности стресс-реализующих систем в условиях посттравматического периода.

Исследование проведено на белых лабораторных крысах обоего пола массой 150–180 г. ЧМТ моделировали путем свободного падения груза массой 100 г с высоты 80 см на теменно-затылочную область головы животного. Через 1 час после нанесения травмы и в последующие 10 дней животным внутривенно 1 раз в день вводили исследуемые препараты. Первой опытной группе животных вводили мексикор (8 мг/кг массы тела), второй – цитофлавин (2 мг/кг массы тела), контрольным животным – 0,9% физиологический раствор. Показатели оценивали на 1, 3, 7 и 12 сутки. В работе исследовали ЭФПЭ методом микроэлектрофореза, концентрацию МДА по реакции с тиобарбитуровой кислотой, и двигательную активность крыс по тесту «метод передвижения по бруску». Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

Было установлено, что после моделирования ЧМТ наблюдалось достоверное снижение ЭФПЭ и увеличение МДА, и как следствие физиологических изменений, ухудшались двигательные способности крыс. На фоне введения мексикора отмечена положительная динамика функциональных показателей эритроцитов: увеличение ЭФПЭ и снижение концентрации МДА к 3 суткам посттравматического периода, в то время как аналогичное действие на фоне введения цитофлавина отмечалось к 7 суткам эксперимента. Восстановление реологических показателей крови сочетается с результатами теста «метод передвижения по бруску». Так, на 3 сутки исследования у животных, которым вводили мексикор, выявлено практически полное восстановление показателя до уровня физиологической нормы, а при использовании цитофлавина только к 7 суткам.

Таким образом, использование мексикора при ЧМТ приводило к достоверно более выраженному и стойкому снижению уровня МДА в отличие от цитофлавина, при этом в процессе использования мексикора происходило более раннее увеличение ЭФПЭ, что свидетельствует об ограничении стрессовой реакции организма. В свою очередь, повышение адаптационных процессов в организме при использовании мексикора в большей степени, чем цитофлавин способствует сокращению восстановительного периода после ЧМТ.

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОМАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

М. В. Шанкин, Е. В. Лияськина, Н. А. Пестов, В. В. Ревин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва,
430032, Саранск, ул. Ульянова, 26б; *Schankinmv@mail.ru*

В настоящее время большое внимание уделяется нанокompозитным материалам, которые можно изменять в зависимости от интересов исследователя. Особое внимание исследователей в настоящее время привлекает бактериальная целлюлоза (БЦ). Благодаря своим уникальным свойствам БЦ является перспективным материалом для промышленности и техники, открывая новые горизонты для нанотехнологий. Она имеет большой потенциал использования в медицине как биоматериал для тканевой инженерии, создания раневых покрытий и трансдермальных терапевтических систем, может использоваться в диетологии в качестве носителя добавок для сбалансированного питания, в промышленной электронике для получения оптически прозрачных соединений с ультранизким коэффициентом теплового расширения, для изготовления акустических диафрагм, способна служить заменой растительной целлюлозы в производстве бумаги. БЦ является перспективным источником получения нанокристаллической целлюлозы и биокомпозиционных материалов. Целью работы было получение наноматериалов на основе БЦ. Культивирование бактерий для получения БЦ осуществляли на стандартной синтетической среде Хестрина-Шрамма. Но показана возможность получения БЦ на отходах биотехнологических производств, что позволит не только утилизировать данные отходы, но и существенно снизить стоимость конечного продукта (нанокристаллической целлюлозы) за счет использования дешевого субстрата. Бактериальная целлюлоза является идеальным материалом для выделения нанокристаллической целлюлозы вследствие её высокой степени кристалличности, что позволяет выделять нанокристаллическую целлюлозу с высоким аспектным соотношением (отношение длины к ширине кристаллического участка). Основным методом выделения нанокристаллической целлюлозы является кислотный гидролиз сильными неорганическими кислотами аморфных участков целлюлозы. Благодаря своей высокой удельной поверхности, нанокристаллическая целлюлоза проявляет значительную реагирующую способность, и высокую прочность. Было обнаружено, что прочность на разрыв нанокристаллической целлюлозы превышает прочность таких веществ, как кевлар 49 и углеродное волокно. Модифицируя данные кристаллы, можно получать вещества с различными свойствами. На основе наноцеллюлозы бактериального происхождения можно получить сверхлегкие материалы повышенной прочности: аэрогели. Данное вещество представляет собой гель, в котором жидкое вещество заменено на газообразную фазу. Аэрогель на 99,9% состоит из воздуха, что делает его идеальным теплоизолятором. Наноматериалы на основе бактериальной целлюлозы могут применяться в таких отраслях, как авиа- и автостроение (создание сверхпрочных и сверхлегких корпусов), военная отрасль (создание упрочненных бронезилетов, пуленепробиваемых стекол, изготовление взрывчатых веществ), в лакокрасочной промышленности, в строительной области и т.д. На кафедре биотехнологии, биоинженерии и биохимии проводятся исследования по получению нанокристаллической целлюлозы и сверхлегких аэрогелей. Получены первые образцы материалов, ведутся исследования по повышению прочностных характеристик данных материалов.

Работа выполнена при финансовой поддержке министерства образования и науки Российской Федерации в рамках базовой части госзадания, проект 2913 «Исследование условий получения новых продуктов и материалов из бактериальной целлюлозы».

ФЛОРОЦЕНОТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА В МЕСТАХ ПЛАНИРУЕМОГО ВЫПУСКА ЛЕСНОГО СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПОВЕДНИКА «КЕРЖЕНСКИЙ»

О. А. Щипанова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
myosotissylvatica2015@yandex.ru

Лесной подвид северного оленя – гербовое животное Нижегородской области, занесен в региональную Красную книгу в категорию 0 (вид, исчезнувший с территории области). Возвращение северного оленя должно способствовать восстановлению экологического равновесия и дальнейшему сохранению биологического разнообразия в регионе. Поэтому изучение возможности его реакклиматизации в Нижегородской области представляет особый интерес. Целью работы являлось обследование состояния растительности в местах планируемого выпуска лесного северного оленя как основа последующего мониторинга воздействия оленей на экосистему.

Исследованием были охвачены 2 участка: 7,4 га на территории бывшего пос. Черноречье и 140 га в урочище «Черный хутор». В ходе исследований на территории планируемых загонов по результатам рекогносцировки выделяли относительно однородные по растительному покрову участки (выделы). Каждый выдел привязывался к геоботанической карте с помощью GPS-навигатора. В пределах каждого выдела выполнены геоботанические описания на круговых пробных площадях радиусом 10 м. Геоботанические описания проведены по методике В. Н. Сукачева. По результатам сделанных описаний фитоценозов выделены растительные ассоциации и составлена геоботаническая карта территорий планируемых загонов.

Растительность планируемого оленьего загона на территории бывшего пос. Черноречье образует вторичные сообщества на участках интенсивной хозяйственной деятельности, проводившейся здесь до организации заповедника. На данной территории были выделены следующие ассоциации: Березняк сухотравный, Березняк орляково-молиниевый, Березняк молиниевое-долгомошный, Осино-березняк сероватвейниковый, Березняк болотнотравный, Наземновейниковый «луг», Двукисточниково-лабазниковый «луг», Сабельниково-рогозовая ассоциация низового болота. На территории урочища «Черный хутор» почти всю площадь (за исключением заболоченных участков) в настоящее время занимают культуры сосны, образующие следующие ассоциации: Сосняк лишайниково-зеленомошный, Сосняк зеленомошно-лишайниковый, Сосняк орляково-зеленомошный, Сосняк молиниевое-зеленомошный, Березо-сосняк орляковый, Березо-сосняк молиниевый, Березо-сосняк молиниевое-сфагновый, Березняк сероватвейниково-сфагновый, Березняк волосистоплодноосоково-сфагновый, Черноольшаник леснокамышовый.

ВЛИЯНИЕ НАРУШЕНИЙ ТРАНСПОРТА КАЛЬЦИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОМИЦЕТА *TRICHODERMA VIRENS* ПОД ДЕЙСТВИЕМ МАГНИТНОГО ПОЛЯ И БЕЗ НЕГО

М. А. Яковлева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mariika___555@mail.ru

В процессах мицелиального роста и развития микроскопических грибов значительна роль ионов кальция, участвующих в регуляции многих внутриклеточных процессов, координации апикального роста гиф и системах трансдукции сигнала. Из окружающей среды Ca^{2+} поступает по ионным каналам, которые рассматриваются как одна из потенциальных мишеней для воздействия слабых переменных магнитных полей (МП). Для проверки гипотезы о том, что вызываемые МП биоэффекты связаны с воздействием на транспорт кальция, необходима удобная в эксперименте модельная система, которой, по нашему мнению, может являться колония непатогенного быстрорастущего и легко культивируемого микромицета в условиях ингибирования транспорта ионов кальция через клеточные мембраны. Целью данной работы являлось сравнение ростовых ответов микроскопического гриба *Trichoderma virens* на нарушение транспорта кальция, наблюдаемых под действием искусственного МП и без него.

Эксперименты проводили с использованием микромицета *T. virens* ВКМ F–1117. Нарушения транспорта экзогенного кальция в гифы гриба вызывали, используя блокатор кальциевых каналов L-типа верапамил и хелатор ионов кальция ЭГТА. Эффекты названных соединений (в концентрации 1 мМ) на прорастание спор и развитие молодого мицелия изучали методом микрокультуры с применением автоматической макросъемки. Ростовые ответы колоний гриба исследовали при развитии *T. virens* в чашках Петри на плотной питательной среде с содержанием верапамила от 0 до 2,5 мМ или ЭГТА 1 мМ, под воздействием МП (43 Гц, 0,5 мТл) и без него. МП создавали с помощью установки, состоящей из соленоида, низкочастотного генератора и усилителя. Геомагнитное поле не экранировали. После посева уколом в центр чашки Петри гриб выращивали 6 суток и затем измеряли диаметр колоний. Опыт проводили в трех повторностях, рассчитывали средние значения и ошибку среднего.

Исследование прорастания *T. virens* показало, что при ненарушенном транспорте кальция (в контроле) прорастание конидий и начало ветвления молодого мицелия происходит спустя 8 ч и 16 ч после посева соответственно. Блокирование кальциевых каналов (1 мМ верапамил) замедляет на 1 ч прорастание, но не изменяет момент начала ветвления. Хелатирование экзогенного кальция (1 мМ ЭГТА), напротив, ускоряет на 1 ч как прорастание, так и начало ветвления.

При изучении роста колоний выявлено, что верапамил в концентрациях 0,5 мМ, 1,0 мМ, 1,5 мМ, 2,0 мМ и 2,5 мМ замедляет рост колоний на 57, 67, 78, 80 и 83% соответственно. При росте в МП наблюдался очень схожий ингибирующий эффект этого блокатора кальциевых каналов. Основной эффект ЭГТА (1 мМ) проявился в изменении морфологии колоний: гиперветвлении гиф, неравномерном радиальном разрастании колоний, их многослойности. К стадии спороношения мицелий, культивирующийся на среде с содержанием ЭГТА, не переходит, в то время как микромицет, выросший на среде с любой из представленных концентраций верапамила, рано или поздно начинает спороносить.

Таким образом, установлено, что исследованные концентрации веществ, нарушающих транспорт кальция, изменяют ростовые процессы *T. virens*, однако МП 43 Гц, 0,5 мТл явного влияния на развитие грибной колонии не оказывает.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абогессименгане Б. Ж.	4, 12	Ведерников А. А.	26
Агабекян И. А.	157	Ведунова М. В.	4, 12, 178
Агеева М. Н.	5, 14, 91	Ведяшкина О. А.	27
Акинина Н. И.	24	Веселова Т. А.	100
Аксенова Н. А.	32	Виногорова Т. С.	133
Алябышева Е. А.	106	Вискова Н. Ю.	21
Амутбаева А. И.	6	Власова К. М.	28
Антипенко М. И.	126	Воденеев В. А.	7, 33, 73, 98, 134
Антонова Н. О.	7, 73	Воденеева Е. Л.	64, 76
Антонова О. В.	8	Волков М. Ю.	90
Апратина К. В.	16, 145	Володина А. С.	29
Арнст Н.	9	Габдулхаков А. Г.	78
Артемьева М. М.	10	Гаврилко Д. Е.	30
Архипова Е. В.	11	Гаврина А. И.	32
Астафьева К. А.	156	Гайнуллин М. Р.	54
Астраханова Т. А.	4, 12, 178	Галиева Л. Р.	31
Астраханцева И. В.	71	Гаранин В. И.	132
Бабаев А. А.	159	Гарбер М. Б.	78
Бакулина А. А.	96, 111, 115	Гаряева М. С.	173
Балалаева И. В.	7, 46, 73, 113, 118, 147	Гаспирович В. В.	33, 153
Балтина Т. В.	9	Гаязова Э. И.	162
Баранов С. А.	13	Глявина М. М.	34
Бардакова К. Н.	143, 163	Голикова А. И.	35
Баринова О. Ю.	59	Голубева Д. О.	36
Баринова Ю. Л.	14	Голубцова Н. В.	50
Белова И. В.	38	Гомзикова М. О.	63
Белоусова И. И.	4, 75	Горб А. Д.	37
Белугин Б. В.	43, 90	Горбунова С. Ю.	67
Беляева К. Л.	15	Горев Д. А.	38
Белякова И. С.	173	Горина М. В.	39
Березина Е. В.	5, 91	Горшкова Е. Н.	179
Блинова Е. В.	16	Грачева Е. А.	111
Боаге С. А.	149	Григорьев А. Г.	37
Богатырева А. О.	17	Груздева Д. В.	40
Богданов Е. Г.	18	Гундырев Д. А.	41
Богданова Я. А.	19	Гурина Н. Н.	25, 50
Богучарова И. В.	42	Гурьев Е. Л.	7, 54, 73, 118, 147
Божанова Н. Г.	164	Даирова Д. С.	42
Болдырева Н. В.	105	Данилюк А. В.	43
Большакова Е. В.	20	Дедикова Т. Н.	44
Бондарев О. О.	64	Деев С. М.	7, 73, 118, 147
Брилкина А. А.	5, 14, 91, 113	Демин И. Ю.	41, 72, 180
Булыгина А. А.	21	Дерюгина А. В.	59, 70, 154, 183
Бухвалова С. Ю.	85	Доронин М. С.	45
Бушуева А. В.	134	Досаева А. А.	46
Быстрова А. С.	22	Дробот В. В.	18, 181
Важдаева Е. В.	23, 74	Дробот В. И.	18, 181
Вакуленко М. Ю.	24	Дробот Г. П.	133, 151
Василенко Е. А.	20, 71, 179	Дубинин М. В.	26, 47, 169
Васильев А. В.	49	Дударь А. И.	48, 101
Васильев В. А.	137	Дуденкова В. В.	22, 112
Васильчиков П. И.	25	Евлеева М. Ю.	49
		Евтюгин В. Г.	79

Егорова О. Е.	44	Котельникова М. Г.	68
Егорова Т. С.	50	Кравченко Г. А.	179
Епифанова Е. А.	159	Красногорова Н. В.	69
Ермакова В. В.	51	Крестова Е. И.	142
Ермакова К. Д.	71	Криволапова Л. В.	5
Ермошин А. А.	52	Крит Т. Б.	180
Еськин В. А.	116	Круглов А. А.	20, 71
Ефимов Г. А.	20, 71, 179	Крыжановская Л. В.	182
Жаберева А. С.	167	Крылова Е. В.	101
Жихарев В. С.	53	Куваева С. С.	70
Жуков И. Ю.	54	Кувалдина К. А.	71
Забиякин В. А.	151	Кудашова А. А.	72
Заболотских В. В.	49, 80, 137	Кудрин А. В.	116
Заборская О. Г.	55	Кудрин И. А.	36
Загайнова Е. В.	22, 32, 177	Кудряшова Д. Л.	73
Залепкина С. А.	10	Кузнецов А. А.	114
Звягин А. В.	7, 73, 123	Кузнецова Н. И.	23, 74
Зибров Ю. С.	24	Кузнецова С.	9
Злобовская О. А.	112	Кузьмина Д. М.	75
Зобкова В. Т.	29	Кузьмичева К. А.	100
Золотарева Т. В.	56	Куимова М. К.	177
Зубкова О. В.	43	Кулизин П. В.	76
Ибрагим В. Е.	97	Куликов А. М.	139
Иванова В. В.	150	Куприянов А. С.	77
Иванова И. П.	11	Курина И. О.	78
Иванова М. В.	57	Курмашева Н. Р.	79
Иванова Т. И.	58	Кутмина С. В.	80
Иванушкина А. А.	59	Кутова О. М.	118
Иванушкина Н. И.	89, 117	Кутузова Н. М.	139
Ивахнова Д. А.	145	Куюкинова Г. Э.	81
Ивлев Е. Д.	60	Ладыженко Е. В.	82
Ильин М. Ю.	53, 56	Лапшин Р. Д.	4, 12
Каменская Э. В.	61	Ларина Т. А.	83
Касатова Е. С.	23, 74	Лебедева А. В.	159
Каштиго Т. В.	21, 90, 107	Лебедева Л. А.	84
Киселева С. В.	43	Лермонтова С. А.	113
Киясов А. П.	9	Лесникова О. Г.	134
Клапшина Л. Г.	113, 177	Лиж В. С.	85
Клементьева Н. В.	164	Липачев Н.	9
Клемина А. В.	152	Лисаченко Л. К.	100
Клюев Е. А.	34	Лияськина Е. В.	17, 110, 128, 184
Кобысов А. И.	62	Логинов П. А.	34
Козина Н. С.	54	Луковникова Л. Б.	25, 50, 161
Колобынина К. Г.	63	Лутфуллин М. Т.	86, 165
Коломина К. Е.	64	Любешкин А. В.	73
Колпащиков А. А.	148	Мавликеев М.	9
Кондратьева К. В.	167	Макеев А. В.	87
Копылов А. В.	65	Макеев И. С.	35, 66, 67
Копылова С. В.	28	Малеев А. А.	85
Коробов А. А.	66	Мальцева А. А.	88
Коротаева М. И.	35, 67	Мамаева Н. В.	89, 117
Короткова И. Н.	154	Марданова А. М.	79, 86, 93, 165
Костарева О. С.	78	Мартынова Е. В.	31, 150
Кострыкина Т. А.	42	Марьин И. А.	175

Маслова М. Н.	149	Паратова М. П.	111
Мацкова Л. В.	54	Парфёнова Т. А.	105
Меженин А. Д.	90	Пегов Р. Г.	50
Мелешина А. В.	22	Перельман Г. С.	112
Мельник С. А.	60	Перенков А. Д.	25, 94
Мельникова А.	9	Пескова Н. Н.	46, 113
Мельникова Н. Е.	91	Пестов Н. А.	184
Мингалеева Р. Н.	122	Петерсон А. М.	97
Минеева Л. Ю.	92	Петрова А. Б.	114
Миннуллина Л. Ф.	93	Подковырина М. В.	96, 115
Мионов А. А.	37, 60	Пономарева Н. В.	159
Митрошина Е. В.	178	Попов А. В.	45
Мифтахова Р. Р.	122	Попова А. А.	116
Михайлина А. О.	78	Попова О. В.	89, 117
Михеева Э. Р.	40	Прохорова Н. В.	8
Мишин А. С.	164	Пугина Е. С.	156
Мищенко Т. А.	54, 178	Пудовкина Г. И.	143
Моисеева Л. Л.	173	Пужихина А. Д.	118
Мокран А.	94	Путихина Ю. А.	119
Мокшин Е. В.	27	Пчелин П. В.	12
Молодкина К. Д.	95	Радостева И. А.	120
Морозова Е. Н.	33, 134, 176	Растунина Д. О.	121
Мотыгина Т. В.	96, 115	Раувала Х.	9
Мохамед Х. А.	97	Рахматуллина А. Р.	122
Мохонов В. В.	20	Ревин В. В.	17, 110, 128, 184
Мочалова Н. К.	86, 165	Речкин А. И.	38
Мудрилов М. А.	98	Ризванов А. А.	63, 122, 150
Мудрова К. С.	18	Розов Ф. Н.	20, 71, 179
Муравьева М. С.	34	Розова В. С.	123
Мухамедшина Я. О.	31	Романова Е. Б.	65
Мухаметова Л. Р.	31	Романова Ю. А.	124
Мухина И. В.	4, 12, 34, 55, 61, 75	Рулева Ю. А.	125
Наумова М. А.	99	Рыбакова А. Н.	47
Наумова О. С.	100, 136	Савицкая К. А.	126
Небова А. Л.	40	Садртдинова И. И.	127
Недоспасов С. А.	20, 71, 179	Самарцев В. Н.	26, 47, 169
Непряхина И. И.	48, 101	Самойлова А. И.	156
Николаев В. Ю.	102	Санатова Э. Р.	31
Никонова Е. Ю.	171	Сапунова Н. Б.	128
Новиков В. В.	23, 50, 74, 161, 174	Сарапкин А. А.	180
Новиков Д. А.	103	Сарбаева Е. В.	148
Новиков Д. В.	20, 25, 50, 69, 71, 94, 161, 174	Свербина Э. В.	129
Новикова Е. М.	104	Свержова К. А.	130, 131
Новожилов И. Л.	105	Свинин А. О.	132
Носкова О. С.	125	Семенова А. А.	133
Овчинникова Е. С.	106	Семина М. М.	134
Осин Ю. Н.	9	Сенчугова М. А.	135
Осипова П. Д.	107	Сень А. В.	73
Ошевенский Л. В.	160	Сергеева Т. П.	136
Павелиев М.	9	Сергеева Т. Ф.	112
Пакина Д. В.	108	Сердюк В. Б.	137
Панкевич А. М.	109	Середнева Я. В.	138
Парамонова Е. Н.	110	Сивопляс Е. А.	139
		Сидоренко М. В.	87

Синенко О. С.	140	Фирсова В. Г.	74
Синицын П. М.	84	Фомина С. Г.	50, 161, 174
Синицына Ю. В.	33	Фролова А. А.	163
Сироткин В. Г.	141	Фурман О. Е.	164
Скворцова В. В.	142	Хадиева Г. Ф.	86, 165
Скворцова И. Е.	120	Хайбуллина С. Ф.	150
Скочилова Е. А.	172	Хамрауй И.	4, 12
Сластенко И. А.	143	Хапугин А. А.	135
Слащинина Я. А.	144	Хворостяная А. С.	167
Смирнова Д. Б.	16, 145	Хламова Ю. Н.	70
Соколов И. С.	146	Хлюнева Т. Ю.	166
Соколова Е. А.	118, 147	Хомутов Д. А.	168
Соколова Е. С.	40	Хорошавина Е. И.	169
Соловьева А. Б.	32	Хромина Ю. Д.	69
Соловьева А. Г.	15, 48, 82, 101	Цветков А. И.	70
Соловьева В. В.	63, 150	Цилинский В. С.	170
Соловьева И. В.	38	Чащина Г. В.	171
Соломайкин Е. И.	102	Чемеков В. А.	181
Старикова Е. А.	148	Чернядзева А. С.	172
Стародумова А. И.	136, 149	Черняева Е. А.	173
Старостина И. Г.	150	Чечеткина У. Е.	173
Степанова А. Е.	47, 151	Чиркунова А. А.	174
Стрельцов Д. А.	152	Чкалов А. В.	95, 108
Стрёмовский О. А.	147	Чугунов Г. Г.	135
Сурова Л. М.	33, 153	Чукилева Л. А.	72
Суслик Т. И.	151	Шабалин М. А.	124, 160
Сухарева Е. Г.	119	Шайхутдинов Н.	9
Сухов В. С.	33, 98, 104, 153, 176	Шаповалова К. В.	175
Тазетдинова Л. Г.	63	Шарагина Е. М.	64
Таламанова М. Н.	160	Шатунова С. А.	52
Тарасова Н. Ю.	154	Шварев Д. С.	20, 71
Терпитская Т. А.	24	Шерстнева О. Н.	176
Тиллиб С. В.	20, 71	Шилкина Р. О.	149
Тимашев П. С.	143	Шилягина Н. Ю.	73, 113
Тихомирова Н. Г.	92	Шимолина Л. Е.	177
Тихонова А. О.	155	Ширманова М. В.	32, 112, 177
Тищенко С. В.	78	Шишкина Т. В.	178
Тойменцева А. А.	155	Школа О. О.	179
Точилина А. Г.	38	Шнейдман Д. Д.	180
Третьяков А. А.	7, 73	Шонгина Т. М.	181
Трофимова С. В.	156	Шумаева Н. А.	182
Трошагина Д. С.	157	Шумилова А. В.	183
Турушев М. О.	158	Щанкин М. В.	184
Тутукова С. А.	159	Щелчкова Н. А.	12
Тюрина Н. А.	160	Щипанова О. А.	185
Умеренков С. Д.	60	Эль Эллак М. Х.	93
Утукова С. В.	161	Юдинцев А. В.	7, 29, 85
Фахруллин Р. Ф.	162	Юсупов А.	131
Фахруллина Г. И.	163	Ягин В. В.	168
Филиппенко Е. С.	183	Яковлева М. А.	186
Финенко З. З.	170		