



СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

**МАТЕРИАЛЫ
XV МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ**

БФФХ - 2020



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ**

БФФХ – 2020

*Материалы XV международной научной конференции
г. Севастополь, 14-16 сентября 2020 г.*

**MODERN TRENDS IN BIOLOGICAL PHYSICS AND CHEMISTRY
BPPC – 2020**

*Proceedings of XV International Scientific Conference
Sevastopol, 14-16 of September, 2020*

Севастополь 2020

УДК 577.113:541.49

ББК

28.07

28.07 Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2020: материалы XV международной научной конференции, г. Севастополь, 14-16 сентября 2020 г. – Севастополь, 2020. – 200 с.

Сборник материалов составлен по итогам XV международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2020», организованной совместно Севастопольским государственным университетом и Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова с 14 по 16 сентября 2020 г. в Севастополе.

В сборнике приведены материалы научных работ, посвященных актуальным вопросам общей и молекулярной биофизики, нанобиофизики, биофизики клетки, биофизики сложных систем, проблемам современной биоорганической, биофизической и медицинской химии.

Издание рассчитано на научных работников, аспирантов, студентов.

Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2020: proceedings of XV International Scientific Conference, Sevastopol, 14-16 of September, 2020. – Sevastopol, 2020. – 200 p.

The proceedings is a compilation of the reports of XV International scientific conference "Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2020", organized by Sevastopol State University and Lomonosov Moscow State University 14-16 of September, 2020 in Sevastopol.

The proceedings contains materials of research papers, devoted to modern trends in general and molecular biophysics, nanobiophysics, cell biophysics, complex systems biophysics, problems of modern biological, biophysical and medicinal chemistry.

The publication is intended for scientists, postgraduate, students.

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:

Евстигнеев Максим Павлович, проректор по научной и инновационной деятельности СевГУ, профессор, д.ф.-м.н. – сопредседатель;

Твердислов Всеволод Александрович, заведующий кафедрой биофизики физического факультета МГУ, профессор, д.ф.-м.н. – сопредседатель;

Артюхов Валерий Григорьевич, заведующий кафедрой, профессор, д.б.н. (Воронежский государственный университет, г. Воронеж);

Бержанский Владимир Наумович, заведующий кафедрой, д.ф.-м.н. (Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, г. Симферополь);

Заседателев Александр Сергеевич, профессор (Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва);

Кожевников Валерий Николаевич, д-р философии (Нортумбрийский университет, г. Ньюкасл, Великобритания);

Нечипуренко Юрий Дмитриевич, д.ф.-м.н., с.н.с. (Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва);

Песик Яцек, профессор (Университет Гданска, Польша);

Паркинсон Джон, профессор (Университет Стратсклайда, г. Глазго, Великобритания);

Ризниченко Галина Юрьевна, профессор (Московский государственный университет, г. Москва);

Рууге Энно Куставич, профессор (ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России, г. Москва);

Тихонов Александр Николаевич, профессор (Московский государственный университет, г. Москва);

Эрнандес Сантьяго Адриан Аполинар, д-р философии (Автономный университет, г. Пуэбла, Мексика);

Яковенко Леонид Владимирович, профессор (Московский государственный университет, г. Москва).

PROGRAM COMMITTEE:

Evstigneev M.P., Vice-rector for Scientific and Innovation Activity, Professor, Ph.D. (Sevastopol State University) – co-Chairman;

Tverdislov V.A., Head of the Department of Biophysics, Faculty of Physics, Professor, Ph.D. (Moscow State University) – co-Chairman;

Artyuhov V.G., Head of Department, Professor, Ph.D. (Voronezh State University, Voronezh);

Berzhansky V.N., Head of Department (V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol);

Hernandez Santiago A.A., Ph.D. (Autonomous University, Puebla, Mexico);

Kozhevnikov V.N., Ph.D. (Northumbria University, Newcastle, UK);

Nechipurenko Yu.D., Ph.D., Senior Researcher (Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow);

Parkinson J., Professor, Ph.D. (University of Strathclyde, Glasgow, United Kingdom);

Pesic Ya., Professor, Ph.D. (University of Gdansk, Poland);

Riznichenko G.Yu., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Ruuge E.K., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Tikhonov A.N., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Yakovenko L.V., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Zasedatelev A.S., Professor, (Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow).

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

Г.А. Агаева, У.Т. Агаева, Н.М. Годжаев Сравнительное исследование особенностей пространственной организации антигипертензивных пептидов овокинина(7) и его аналога новокинина	16
Г.А. Агаева, Г.Р. Сеферли, Н.М. Годжаев Конформационные особенности молекулы гиламбатина и его фрагментов	17
Н.А. Аксенова, Н.Н. Глаголев, А.С. Курьянова, П.С. Тимашев, А.Б. Соловьева Влияние длины волны и интенсивности возбуждающего света на фотосенсибилизирующую активность систем Фотодитазин-плюроник F127 в модельных процессах фотоокисления	18
Н.Ш. Александрова О биологической основе естественного билингвизма	19
М.Е. Асташев, Д.А. Серов LED RGB источник проходящего света в микроскопии клеточных популяций	20
О.Е. Багрова, Е.В. Малышко, В.А. Твердислов О локализации спиралей и суперспиралей в белках	20
С.Ф. Барановский, Д.Н. Чернышев, М.А. Албет Гетероассоциация молекул тиазинового красителя и кофеина в водном растворе	21
Л.Р. Богданова, А.О. Макарова, О.С. Зуева, Ю.Ф. Зуев Альгинатные гидрогели для современных природоохранных технологий	22
Е.В. Бражников, А.В. Ефимов Стереохимический анализ структуры ОВ-фолдов	23
М.В. Вавилов, В.Н. Петушков, Н.С. Родионова Исследование структур низкомолекулярных компонентов биолуминесцентной системы сибирских энхитреид <i>Henlea sp.</i>	23
Д.П. Воронин, В.А. Кальпа Анализ комплексообразования ароматических биологически активных соединений с поверхностью одностенных углеродных нанотрубок	24
Л.И. Воронина, Е.В. Малышко, М.Г. Михалева Механизмы структурообразования в гомотиральных биомиметических системах	25
А.Е. Гасанова Electrophysiological effects of dandelion-burdock composite on the plasma membrane of <i>Chara Fragilis</i> cells	26
Ю.М. Горовой Об условиях передачи информации путем внешнего воздействия на супрамолекулярную структуру: молекулу ДНК и ее водное окружение	27
А.С. Гулин, Р.П. Тренкеншу, Д.Н. Чернышев Логическая модель для систем автоматического контроля роста микроводорослей. Обоснование выбора и оценка точности	28
Л.А. Дадинова, А.А. Можаяев, Р.А. Камышинский, Ю.М. Чесноков, И.А. Орлов, Е.Ю. Сошинская, М.В. Петухов, А.С. Орехов, А.Л. Васильев, Э.В. Штыкова Структурные аспекты механизма защиты бактериального генома по данным малоуглового рентгеновского рассеяния и крио-электронной микроскопии	29
И.В. Дегтяр, А.О. Лантушенко, Е.А. Водясова, Э.С. Челебиева Сравнительный анализ различных протоколов выделения ДНК <i>Arthrospira platensis</i>	29

О.С. Завьялова, А.Ф. Дворникова, Е.А. Слепушкина Использование прогностических моделей для расчета химических сдвигов протонов дезоксиолигонуклеотидов	30
А.А. Замятнин, Т.А. Белозерская Биологически активные фрагменты белковых структур глобального протеома	32
К.Ю. Иванов, Г.Л. Паточка, В.И. Нагиба, И.А. Варганова, Е.А. Никанорова Биофизический подход к оценке неспецифической реактивности клеток организма	33
В.С. Ключкова, А.В. Гаджи, А.С. Лелеков Сравнительная оценка максимальной продуктивности накопительной культуры <i>Porphyridium purpureum</i> и <i>Arthrospira platensis</i>	34
Н.К. Кочарли, С.Т. Гумматова Структурно-функциональное состояние плазматических мембран клеток дрожжей при действии γ -излучения	35
Т.Э. Кулешова, А.И. Желнина, О.Р. Удалова, Г.Г. Панова, Н.Р. Галль Динамика конверсии света листьями растений в электрический ток в прикорневой зоне	35
А.М. Кусова, А.Э. Ситницкий, Ю.Ф. Зуев Влияние pH и ионной силы на белок-белковые взаимодействия фибриногена по данным трансляционной диффузии	37
В.И. Лобышев О проблеме влияния малых концентраций на биологическую активность	38
А.О. Макарова, О.С. Зуева, Ю.Ф. Зуев Использование гидрогелей с углеродными нанотрубками в качестве реагентов для нефтеотдачи	38
Ш.С. Махмудова, Н.А. Мусаев Функциональная активность и структурная лабильность плазматической мембраны клеток <i>Nitellopsis obtusa</i>	39
Я.В. Мегер, А.О. Лантушенко, Ю.А. Яковлева, О.С. Ельцов Использование различных экспериментальных методик ЯМР-спектроскопии для анализа агрегации платиносодержащих соединений NNC-типа	40
Я.В. Мегер, А.О. Лантушенко, Е.А. Водясова Влияние степени фильтрации данных секвенирования на качество и полноту de novo сборки транскриптома	41
Н.Н. Мельник, В.В. Савранский, Л.М. Апашева, А.В. Лобанов Исследование влияния обработки семян электромагнитным излучением методом комбинационного рассеяния света	42
В.О. Менухов, М.М. Кассим, М.В. Каневский Изменение термодинамических характеристик плёнок Ленгмюра-Блоджетт на основе дипальмитоилфосфатидилхолина под влиянием флавоноидов	43
Г.Б. Мурзина Кластеризация рецепторов, как один из механизмов увеличения синаптической эффективности	44
Ю.Д. Нечипуренко, Д.А. Семёнов Неканонические пары GC и эпигенетика	45
В.В. Новиков, Е.В. Яблокова, И.А. Шаев Молекулярные механизмы действия магнитной депривации на продукцию активных форм кислорода нейтрофилами	46
Б.Л. Оксенгендлер, Н.Н. Тураева, Н.Н. Никифорова, Ф. Искандарова, М.В. Минина Гипотеза о возможной роли радиационных Оже-процессов как фильтра по отбору диссиметрии энантиомеров-биополимеров	47
Р.В. Полозов, Т.И. Грохлина, Л.А. Панченко, В.В. Иванов Статистический анализ пространственных структур ДНК в интерфейсах комплексов гомеодомен-ДНК	48

М.В. Рагульская, Е.Е. Текуцкая, М.Г. Барышев, В.Н. Обридо Биофизические и гелио-физические факторы в развитии пандемии вируса SARS-CoV-2	48
М.В. Рагульская, В.Н. Обридо, Э.С. Бабаев Космическая погода и биомедицинские мониторинги 1998-2019 гг	49
Г.Ю. Ризниченко Системно-динамические и агентные модели в биологии	51
Н.Н. Сажина, И.Н. Попов, М.Г. Семенова, А.С. Антипова, Е.И. Мартиросова, Н.П. Пальмина Влияние состава длительной функциональной липосомной диеты на антиокислительную активность липидов мозга мышей	52
К.Ф. Сергейчев, Л.М. Апашева, А.В. Лобанов, Н.А. Лукина Развитие растений огурца <i>in vitro</i> на ранних этапах роста в условиях фотореспирационного стресса	52
А.Б. Соловьева, А.Б. Шехтер, Н.Н. Глаголев, С.Ф. Тимашев Влияние полимерных систем «Фотодитазин-плюроник F127-хитозан» в условиях фотоактивации на развитие гнойно-воспалительного процесса в инфицированных ранах	53
Н.Н. Хечинашвили, М.С. Кондратьев, Р.В. Полозов Термодинамика нативной структуры глобулярного белка	54
Д.Н. Чернышев, С.Ю. Горбунова Разделение спектров поглощения культуры и ацетонового экстракта микроводоросли <i>Tetraselmis viridis</i> на спектры отдельных пигментов	55
Ю.Н. Чиргадзе, Е.В. Бражников, К.П. Батайли, В. Романов, А. Лин, Р. Лэм, Р. Гордон, Н.Ю. Чиргадзе Изменения в активном центре тирозин фосфатазы РТР1В человека при связывании с аллостерическим ингибитором	56
Ю.П. Чукова Энергетические законы биофизики: теория и эксперимент	57
Т.А. Яхно, В.Г. Яхно Исследование роли микродисперсной фазы воды при переходе ее в состояние активации	58

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ

А.М. Абатурова, Г.Ю. Ризниченко Модель броуновской динамики распределения молекул цитохрома с вокруг III дыхательного комплекса в растворе	60
Л.Н. Агаева, А.А. Абдинова, С.Р. Ахмедова, Н.Ф. Ахмедов, Н.А. Ахмедов Пространственная структура молекулы α -Сказоморфина	61
П.В. Артюшенко, И.А. Щугорева Применение квантово-химических методов для установления третичной структуры аптамеров	62
К.З. Аскарлова, Г.И. Морозова, А.М. Умнов Моделирование кинетики накопления заряженных фотосенсибилизаторов в разных зонах опухолей с учётом изменения градиентов электрических полей на клеточных мембранах	63
Г.А. Ахвердиева, С.Д. Демухамедова, Н.М. Годжаев Исследование биоактивной конформации вилона	64
Н.А. Ахмедов, Л.Н. Агаева, Ш.Н. Гаджиева, Р.М. Аббаслы, Л.И. Исмаилова Пространственная структура молекулы сойморфина-7	65

Л.М. Бабков, Н.А. Давыдова, И.В. Ивлиева (Перетокина) Построение структурно-динамических моделей и интерпретация ИК спектров трифенилфосфита	66
Н.Е. Беляева, А.А. Булычев, К.Е. Клементьев, В.З. Пашенко, Г.Ю. Ризниченко, А.Б. Рубин Включение регуляции State transition при описании в модели тилакоида стадий нарастания и спада сигналов флуоресценции, характерных для водорослей и цианобактерий	67
Д.С. Блохин, А.Г. Бикмуллин Моделирование комплексообразования фибриллообразующих пептидов, участвующих в усилении активности ВИЧ	68
Е.Н. Богачева, А.А. Долгов, А.Л. Ксенофонов Специфика пространственной структуры белков оболочки потексвирусов	69
В.С. Быстров, С.В. Филиппов, О.А. Жулябина, В.А. Твердислов Молекулярное моделирование структур и свойств дифенилаланиновых пептидных нанотрубок, содержащих молекулы воды	70
Л.И. Валиева, Р.Э. Алиев Пространственное строение и конформационная подвижность нейропептида Leu-Галлатостатина 2	71
В.В. Галанин Методы подбора и моделирование электрической активности пары клеток синоатриального узла сердца	71
А.Я. Гараева, А.Э. Сидорова, Н.Т. Левашова Самоорганизованная критичность в автоволновой модели фиксации мутаций	72
А.В. Ефимов Новые закономерности строения α -спиральных шпилек в белках	73
Л.И. Исмаилова, Р.М. Аббаслы, Н.А. Ахмедов Структурная организация глипролиновых аналогов	74
А.М. Каргатов Влияние последней позиции N-концевого β -тяжа на отбор расщеплённых и нерасщеплённых $\beta\alpha$ -единиц	75
Б.Н. Клочков Моделирование динамики крупных кровеносных сосудов	76
Л.А. Краснобаева, Л.В. Якушевич Термодинамические потенциалы идеального газа нелинейных конформационных возмущений – кинков, активированных в кольцевой плазмиде рТТQ18	77
И.В. Кручинин, Л.В. Яковенко Моделирование перехода к агрегации в популяции микса-меб	78
А.Л. Ксенофонов, М.В. Петухов, Е.В. Скурат, Е.Н. Добров, Э.В. Штыкова Структурное моделирование вирионов потивирусов в растворе по данным малоуглового рентгеновского рассеяния	79
А.С. Кузнецов, Р.Г. Ефремов Трансмембранный димер рецептора инсулина: предсказание структуры и возможная роль в активации	80
А.О. Луценко, Д.К. Шпигун, А.Э. Сидорова Метод количественной оценки хиральности вторичных спиральных структур белков	80
А.О. Луценко, Д.К. Шпигун, А.Э. Сидорова Метод количественной оценки хиральности третичных суперспиральных структур белков	81

Р. Мендоза-Баез, М.А. Моралес, А. Луна Флорес, Р. Агустин Серрано, А.М. Сервантес Тавера, А.А. Эрнандес Сантьяго Modeling reaction kinetics of ZnO microparticles synthesized via microwave: <i>ab initio</i> simulation	82
М.А. Орлов, Т.Р. Дзелядин, А.А. Сорокин Физические свойства ДНК для промоторной функции: анализ исчерпывающего мутагенеза промотора бактериофага T7	83
М.В. Петухов, А.Л. Ксенофонтов, Э.В. Штыкова Многофазное <i>ab initio</i> моделирование А вируса картофеля по данным малоуглового рентгеновского рассеяния	84
А.Э. Сидорова, Н.Т. Левашова, А.Я. Гараева, В.А. Твердислов Модель биологической эволюции как процесса автоволновой самоорганизации иерархии активных сред	85
Э. Соларес, М.А. Моралес, А. Луна-Флорес, А.М. Сервантес-Тавера, А.А. Эрнандес-Сантьяго Modeling and computational simulation of photocatalysis of a bismuth oxyalurer for air remediation	85
Е.Ю. Сошинская, М.В. Петухов, Э.В. Бочаров, Э.В. Штыкова Изучение комплекса трансмембранных фрагментов белков семейства инсулин-подобных рецепторов с мицеллами DPC методом малоуглового рентгеновского рассеяния	86
Э.В. Терешкин, К.Б. Терешкина, Ю.Ф. Крупянский Миграция орцинола через модельные мембраны грамотрицательной бактерии	87
К.Б. Терешкина, Э.В. Терешкин, В.В. Коваленко, Н.Г. Лойко, А.Л. Чуличков, Ю.Ф. Крупянский Температурная зависимость флуктуационной подвижности белков DPS	88
Л.А. Уварова, Е.Ю. Романова Моделирование структуры и процесса возбуждения в активных центрах ферментативных бионаноконплексов	89
С.В. Филиппов, И.В. Лихачёв, В.С. Быстров Визуально-дифференциальный анализ структурных перестроек водных кластерных структур, находящихся во внутренней полости D-FF нанотрубок	90
А.А. Ходонов, Н.Е. Беликов, А.Ю. Лукин, Л.Е. Петровская, В.В. Чупин, О.В. Демина Исследование селективности окружения хромофор-связывающего сайта молекулы бактериородопсина с помощью аналогов ретиноидов	91
А.А. Чекушкин, А.С. Лелеков, Р.Г. Геворгиз Сезонная динамика предельной продуктивности культуры микроводорослей	92
Э.В. Штыкова, М.В. Петухов Неоднозначность определения формы по данным малоуглового рентгеновского рассеяния: поиск оптимальной структурной модели инсулин-подобного рецептора IRR	93
Дж.А. Эрнандес Агирре, Дж.А. Арзола Флорес, Е. Видаль Роблес, Ф. Савиньон Флорес, А. Мальдонадо Гарсия, Г. Гуарнерос Беджарано, Ф. Рохас Родригез, А.А. Эрнандес Сантьяго Multilayer perceptron neural network for the prediction of the ripening stages of fruits and vegetables	94

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

С.В. Авакян, Л.А. Баранова Микроволновые излучения в онкологии: о возможности торможения злокачественного митоза	95
М.В. Антипчик, Е.С. Синицына, Д.С. Поляков, Е. Реут, В. Сырицкий, Е.Г. Коржикова-Влах Разработка высокочувствительных биосенсоров для ранней диагностики вируса гепатита С	96
А.Х. Аширметов, Ф. Искандарова, Б.Л. Оксенгендлер Солитонная доставка возбуждений и стимулирование биохимических реакций медицинского назначения в живых системах	96
Е.М. Бакурова, В.С. Дорошкевич Синдром «старения эритроцитов» – как фактор формирования агрессивного фенотипа опухоли	97
Е.М. Балашов, О.А. Лопатина, О.В. Бакланова, С.А. Ковалевский, М.В. Мезенцева, Н.А. Ивашкевич, А.И. Кулак, Ф.И. Далидчик Природа противовирусной активности полиоксометаллатов	98
К.Н. Белослудцев, Н.В. Белослудцева, В.С. Старинец, Е.Ю. Таланов, М.В. Дубинин Митохондриальная дисфункция при сахарном диабете	99
Л.В. Бельская, Е.А. Сарф Оценка липидного профиля слюны при раке яичников, эндометрия и щитовидной железы методом ИК спектроскопии	100
Ю.Г. Бирулина, Е.Е. Буйко, И.О. Габитова, В.В. Иванов, Л.В. Смаглий, А.В. Носарев, С.В. Гусакова Роль $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -котранспорта в регуляции сократительных реакций гладких мышц сосудов при метаболическом синдроме	101
Е.И. Бочков, А.Г. Миронова, С.А. Яковенко, Е.Ю. Симоненко Влияние мелатонина и глутатиона на окислительный стресс в сперматозоидах	102
А.С. Бучельников, В.А. Сало, Ю.А. Яковлева, О.С. Ельцов, В.Н. Кожевников, М.П. Евстигнеев Сравнительный анализ самоассоциации комплексов Pt-производных саленов, сальфенов и арилбипиридинов по данным ЯМР-спектроскопии и ЯМР-диффузометрии	103
Е.И. Венская, Л.М. Лукьяненко, А.С. Скоробогатова Влияние амилоидных фибрилл из лизоцима на состояние липидного бислоя лимфоцитов человека при действии окислительного стресса <i>in vitro</i>	104
В.В. Внуков, И.В. Кролевец, А.А. Плотников, А.А. Ананян, М.А. Колесников, Н.П. Милютин Система оксида азота и провоспалительных цитокинов в механизмах дегенеративных заболеваний суставов	105
Ю.М. Гармаза, А. Чиана, Дж. Минетти Детергент-резистентные мембраны в эритроцитах человека: влияние ионов цинка на модификацию их состава	106
Е.А. Генералов, Л.В. Генералова Влияние полисахаридов на течение COVID-19	107
В.А. Головкин, А.В. Козловская Функциональная роль калиевых каналов в формировании автоматии в синоаурикулярном узле мыши	108
Д.И. Грачёв, К.Б. Шумаев, Э.К. Рууге Исследование нитрозильных комплексов гемоглобина в различных модельных системах с помощью спектроскопии ЭПР	109

Е.В. Грехнева, Н.Л. Меркулова, С.В. Чуйкова, В.Н. Малышев Хромато-масс-спектрометрическое исследование пептидов кожного секрета безчешуйчатого вида рыб	110
Ф.И. Далидчик, Е.М. Балашов, С.А. Ковалевский Холестерин как фактор риска заражения вирусом SARS-Cov-2	111
М.В. Дубинин, А.А. Семенова, В.А. Выдрин, В.А. Шарапов, А.Е. Степанова, К.С. Теньков, Е.И. Хорошавина, К.Н. Белослудцев Тритерпеноиды лупанового ряда как модуляторы функциональной активности митохондрий печени крыс	112
И.В. Жигачева, И.Ф. Русина, С.В. Васильева Ресвератрол повышает устойчивость организма к стрессовым воздействиям	113
С.В. Зиновьев, Н.С. Сапрыкина Динамика температурного статуса злокачественных новообразований различного гистогенеза: экспериментальное исследование	114
А.Т. Ишемгулов, С.Н. Летута, С.Н. Пашкевич, А.Н. Никиян Реакции, инициированные двухквантовым возбуждением сенсibilизаторов в планктонных бактериальных культурах	114
К.Д. Казаринов, А.В. Чеканов, И.Г. Полников, С.В. Титов Роль наночастиц в биологических эффектах электромагнитных полей	115
Э.А. Касумов, Р.Э. Касумов, И.В. Касумова Механизм действия препаратов ПУЛДИС энергет Р и ПУЛДИС герпофф К на энергетику и их роль в профилактике старения и возраст-зависимых болезней	116
Н.Н. Климович, Г.П. Зубрицкая, Т.И. Козарезова, Е.И. Слобожанина Изменение физико-химических свойств мембран эритроцитов у детей с миелодиспластическими синдромами	117
П.П. Кобчикова, С.В. Ефимов, В.В. Клочков Изучение циклоспорин D-мицеллярного комплекса методом ЯМР высокого разрешения: получение информации о пространственной структуре	118
Н.А. Колтовая Моделирование мутантной формы инозин трифосфат пирогидролазы человека ГРА-Р32Т и потенциальные химические модификации фермента	119
Н.А. Колтовая, Э.Б. Душанов Распределение мутаций в молекуле белка дрожжевой аргинин пермиазы Can1	120
О.В. Космачевская, Э.И. Насыбуллина, А.Ф. Топунов, К.Б. Шумаев Динитрозильные комплексы железа – перехватчики пероксинитрита и протекторы гемоглобина	120
К.А. Крицкая, Е.И. Федотова, А.В. Бережнов Активатор Ngf-2 защищает клетки с трипликацией альфа-синуклеина от гибели в условиях острой токсичности с перекисью водорода и снижает скорость продукции АФК	121
А.В. Лукин, В.К. Иванов, А.Е. Баранчиков, А.А. Прокопов, Г.И. Лукина Регенеративные способности нанокристаллического CeO_2 при лечении осложнённого кариеса	122
Э.А. Масимов, Г.М. Шахбазова Влияние различных внешних воздействий на разделительную способность водной двухфазной системы ПЭГ-натриевая соль лимонной кислоты-вода	123
Г.Т. Маслова, Н.А. Алексеенко, М.Н. Коваленко, А.В. Титова, М.П. Патапович, А.П. Зажогин Использование морфоструктурного анализа и атомно-эмиссионной спектроскопии высохших капель плазмы крови для диагностики пациентов с опухолями головного мозга	124

И.А. Мельников, А.А. Спиридонова, Е.Б. Морошкина Взаимодействие молекулы ДНК с различными антисептиками и бактерицидными препаратами	125
А.В. Мельницкая, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая Трифлуоперазин подавляет эффект глутоксима на транспорт Na^+ в коже лягушки	126
Л.С. Миленина, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая Соединение YM-58483 ингибирует депозависимый вход Ca^{2+} в макрофагах	127
Н.К. Миранда Чикурова, А.О. Михайлина, Н.В. Леконцева, Н.Б. Ильина, В.А. Балобанов Методы очистки и ступенчатой ренатурации гибридных белков нового типа	128
Г.А. Набережных, А.А. Сергеев, О.Ю. Портнягина, Д.К. Чистюлин, Е.В. Сидорин, О.Д. Новикова Биоконъюгирование коллоидных квантовых точек сульфидов кадмия и надмолекулярных структур белка-порина из бактерий рода <i>Yersinia</i> . Получение и характеристика	128
П.В. Нагорнова, А.В. Белкин, В.Н. Дубровский, А.В. Елифанов, А.Д. Шалабодов Оценка реологических детерминант крови человека с железодефицитной анемией в сравнении с аналогичными показателями крови здоровых людей	129
М.А. Наквасина, И.А. Колтаков, В.Г. Артюхов Структурно-функциональные модификации лимфоцитов человека после воздействия серебряных наночастиц	130
Б.В. Папонов, М.С. Самохвалова, Д.Д. Якименко, М.С. Тилинин, И.А. Малышева, Д.А. Ракитянский, Н.П. Тарасова, А.С. Бучельников Синтез красителей Эрлиха на основе азолопиримидиниевых солей и изменение их свойств при раскрытии азольного фрагмента бицикла	131
П.В. Перетягин, А.Г. Соловьева, Е.А. Галова, Г.Г. Храпункова Оценка особенностей микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии в сублингвальной области на фоне гипоксии при ожоговой болезни у детей	132
И.В. Петрова, Ю.Г. Бирулина, Е.Е. Буйко, Л.Ф. Алибаева, Л.В. Смаглий, С.В. Гусакова Механизмы регуляции Ca^{2+} -зависимой калиевой проницаемости мембраны эритроцитов при метаболическом синдроме	133
И.Л. Пластун, А.Н. Бокарев, А.А. Захаров, А.А. Наумов Молекулярные механизмы образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза	133
А.Г. Погорелов, Т.А. Степанова, В.Н. Погорелова, О.А. Суворов, А.А. Гулин Nutrition additive of E322 as phosphatidylcholine source for envelope in nanoscale formulation	135
Т.А. Прокопенко, Н.И. Нечипуренко, М.Н. Коваленко, И.Д. Пашковская, М.П. Патапович, А.П. Зажогин Оценка динамики метаболизма ЖНЭ в организме пациентов с заболеваниями головного мозга методами атомно-эмиссионной спектроскопии образцов плазмы крови	136
А.А. Прокопов, А.В. Митронин Метод ЯМР-спектроскопии как инструмент стоматологической метаболомики	137
Г.Т. Рихирева, М.Г. Маклецова, Г.Р. Уразгильдеева Природа изменения интенсивности сигналов ЭПР $\text{Cu}^{(2+)}$ -содержащих комплексов в крови пациентов с болезнью Паркинсона	138

Е.А. Рогожин, А.С. Васильченко, А.С. Барашкова, В.С. Садыкова, Г.С. Катруха, О.А. Лапчинская Новая группа пептидных антибиотиков, синтезируемых штаммом <i>Streptomyces roseoflavus</i> INA-5812 и активных в отношении грамположительных бактерий: подходы к структуре и функциональный аспект	139
Н.А. Роденко, Т.И. Васильева, И.А. Беляева Влияние микроокружения на активность лекарственных препаратов, облученных импульсным магнитным полем	140
Н.О. Ронжин, Е.Д. Посохина, Е.В. Михлина, М.М. Симунин, И.И. Рыжков, В.С. Бондарь Получение композита из нановолокон оксида алюминия и наноалмазов и изучение его физико-химических свойств	141
Е.В. Семенова, Е.В. Малышко, В.А. Твердислов К вопросу о хиральных корреляциях в фармакологии и молекулярной биологии	142
Л.В. Смаглий, В.С. Гусакова, С.В. Гусакова, Ю.Г. Бирулина, Е.А. Голованов, Е.Е. Чибисов, А.М. Горянова Роль АТФ в объем-зависимой регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток легочной артерии крысы	143
О.Д. Смирнова, В.Е. Лукьяшин, С.Т. Латушкин, Ю.П. Сёмочкина, А.В. Родина Использование плёночной дозиметрии и моделирование глубинного распределения поглощенной дозы при облучении клеток низкими дозами протонов	144
А.Г. Соловьева, П.В. Перетягин, И.А. Мартынов Особенности изменения окислительного и энергетического метаболизма крови при микроволновой терапии термической травмы в эксперименте	145
А.В. Тамашевский, Ю.М. Гармаза, В.В. Пасюков, Е.И. Слобожанина Экспрессия транспортных и цитозольных белков при формировании множественной лекарственной устойчивости в клетках множественной миеломы человека <i>in vitro</i>	146
Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова Антиоксидантные свойства водных экстрактов йерба мате (<i>Plex paraguariensis</i>)	147
Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова Хемилюминесцентный метод определения антиоксидантной способности биологических объектов	148
М.В. Туровская, М.С. Гавриш, Е.А. Туровский Сверхэкспрессия BDNF подавляет признаки эпилептиформной активности нейронов коры мозга мышей с мутацией транскрипционного фактора Sip1	149
Е.А. Туровский, М.В. Туровская Ожирение подавляет Ca^{2+} -сигналы адипоцитов белой жировой ткани на норадреналин и ацетилхолин через снижение экспрессии рианодиновых и IPрецепторов	150
Д.А. Файзуллин, Ю.А. Валиуллина, Ю.Ф. Зуев Структура композитных гидрогелей на основе фибрина и рамногалактуронана I	151
И.А. Хайруллина, Е.А. Борулева, И.А. Наговицын, А.В. Лобанов, Г.К. Чудинова Изменение люминесценции пленок $ZnO:SiO_2:Tb^{3+}$ под действием ДНК	152
И.А. Хайруллина, И.А. Наговицын, А.В. Лобанов, Г.К. Чудинова Влияние ДНК на оптические свойства пленок $ZnO:SiO_2:La^{3+}$	153
А. Эфтехари, Х. Хосейнзадеган, З. Магхсуди, А. Хасанзаде Effects of nanoparticles on bio-films	154

А. Хасанзаде, С. Дараван, А. Эфтехари, Х. Хосейнзадеган, З. Магхсуди, Ф. Хейдари, М. Хосейнзадеган Nanotechnology as a solution to deal with viral infections like Covid-19	154
С.М. Панкова, Ф.А. Сакибаев, В.А. Королева, С.С. Ольшанникова, М.Г. Холявка, В.Г. Артюхов Поиск <i>in silico</i> возможных сайтов связывания с носителями при иммобилизации протеолитических ферментов	155
А.Т. Ходько Механизм защитного действия раствора ЦНИИГПК-11 ₅ на эритроциты донорской крови при криоконсервировании	156
Х. Хосейнзадеган, А. Эфтехари, М. Морадзаде, Л. Ганизаде, М. Хосейнзадеган The effect of Wi-Fi electromagnetic waves on the phenotypic characteristics of hospital-acquired bacterial pathogens	157
И.А. Черенков, Е.В. Харанжевский, В.Г. Сергеев Активация макрофагов на рутенийсодержащих электродных материалах, полученных методами высокоскоростного лазерного синтеза	157
И.С. Черепанов, Я.С. Корепанова Гликозиламины <i>n</i> -аминоацетанилида как молекулярные гелеобразователи	158
А.М. Черныш, Е.К. Козлова, В.А. Сергунова, О.Е. Гудкова, Е.А. Шерстюкова, А.П. Козлов АСМ методы исследования клеток крови	159
Г.Ф. Шаймарданова, И.А. Гайсин, А.Р. Васильева, Л.А. Краснова Динамика экспрессии генов седалищного нерва мыши при моделировании гипогравитации	160
Н.В. Шеховцов, Е.Б. Морошкина Определение термодинамических параметров связывания низкомолекулярных биологически активных соединений с молекулой ДНК	161
А.Г. Шлихт Геном-центрированная интеллектуальная системно-кибернетическая структурированная модель в задачах оптимального синтеза рационов человека	162
К.Б. Шумаев, В.А. Медведева, М.В. Иванова, Э.К. Рууге Взаимодействие динитрозильных комплексов железа с ферритином и митохондриями	163
В.А. Щелконогов, О.А. Баранова, А.В. Чеканов, К.Д. Казаринов, Н.С. Шастина, С.Л. Стволинский, Т.Н. Федорова, Э.Ю. Соловьева, А.И. Федин, Г.М. Сорокоумова Антиагрегационное действие липосомальной формы, содержащий липоевую кислоту с карнозином	164
Т.Г. Щербатюк, А.А. Ляхова, Е.С. Жукова, Т.В. Жилыева, А.С. Пятойкина, И.В. Семенов, А.Л. Цвет, А.Б. Гапеев Свободнорадикальные процессы у больных с первыми эпизодами шизофрении	165
А. Эфтехари, Х. Хосейнзадеган, З. Магхсуди, А. Хасанзаде, Ф. Хейдари, М. Хосейнзадеган Non-invasive predictors of oral cancer	166

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

В.Б. Абдыев Изучение некоторых физиолого-биохимических процессов пшеницы на ранних этапах онтогенеза при засолении	167
А.А. Акшинцев, Г.И. Морозова, М.А. Козлова, Г.М. Баренбойм Адаптивное влияние экстрактов термофильных водорослей на энергетику лейкоцитов в нативной донорской крови в присутствии цитостатика, выявляемое по флуоресценции зонда-катиона ДСМ	168
К.А. Аленина, Л.Э. Алескерова, А.Д. Исмаилов Экологические особенности морских светящихся бактерий Арктического региона	169
Л.Э. Алескерова, К.А. Аленина, А.И. Исмаилов Специфические спектральные и эмиссионные характеристики низкотемпературных штаммов морских фотобактерий	169
М.В. Астафурова, В.И. Астафуров Анализ возможных причин высокой смертности от COVID-19 в некоторых странах Европы	171
М.В. Астафурова, В.И. Астафуров Теоретические основания биологического действия техногенного электромагнитного миллиметрового излучения	172
С.В. Беспалова, С.М. Романчук, С.В. Чуфицкий Параметры флуоресценции и динамика роста культуры <i>Chlorella sorokiniana</i> при различном содержании биогенных веществ	173
М.И. Будник, Д.С. Стребков, А.С. Евстафеев, Л.М. Апашева, А.В. Лобанов, Е.Н. Овчаренко Получение экологически чистых растворов пероксида водорода при низкоэнергетическом бесконтактном воздействии на воду и их применение	174
С.В. Гудков, А.В. Симакин, И.В. Баймлер, И.И. Раков, М.И. Жильникова, В.В. Воронов, О.В. Уваров, Е.В. Бармина, Г.А. Шафеев Разработка полидисперсных селен содержащих наноагрегатов для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур	175
Т.В. Дрозденко, Г.П. Кукарских, Т.К. Антал, А.А. Волгушева Измерение индукционных кривых флуоресценции хлорофилла (ОЛР) в коре побегов деревьев для диагностики экологического состояния лесных и парковых фитоценозов	176
В.В. Дубас, И.В. Алексахин, А.А. Мосунов, К.В. Якимова Спектральные исследования лугово-черноземных почв Белогорского района Республики Крым	176
Ю.С. Жданкина, М.А. Усик, Н.С. Бирюков, И.В. Огнева Влияние краткого пребывания в условиях микро- и гипергравитации на двигательную активность сперматозоидов мышей	177
С.Н. Железнова, Р.Г. Геворгиз Измерение плотности диатомовых микроводорослей различными методами	178
Э.А. Иванова Биофизическая экология в ракурсе концепции супрамолекулярной химии	179
В.А. Лисютин, О.Р. Ластовенко, А.Д. Дегтяр, В.А. Кальпа Частотно-временная структура коммуникативных сигналов морских млекопитающих в условиях волноводного распространения звука	180
Д.Н. Маторин, Д.А. Тодоренко, С.Н. Горячев, Л.Б. Братковская, А.А. Алексеев Изучение активности микроводорослей методом индукции флуоресценции хлорофилла	180
А.А. Мосунов, В.П. Евстигнеев, О.С. Сизова, М.И. Лернер Исследование спектроскопическими методами биметаллических нанокомпозитных покрытий	181

А.А. Мосунов, В.П. Евстигнеев, О.С. Сизова, Ю.Р. Дульчук Исследование методами комбинационной спектроскопии модифицированных биметаллическими наночастицами защитных покрытий кораблей и гидротехнических сооружений	182
А.А. Мосунов, В.П. Евстигнеев, О.С. Сизова, И.В. Головченко, Е.С. Полупан Исследование методами инфракрасной спектроскопии защитных покрытий кораблей с биметаллическими наночастицами	183
А.В. Вершубский, В.И. Приклонский, А.Н. Тихонов Влияние температуры на процессы электронного и протонного транспорта и синтез АТФ в хлоропластах: компьютерная модель.....	184
К.В. Неверов Light acclimation of unicelular red alga <i>Rhodella violacea</i> : ΔpH gradient, antenna reassembling and photoprotection	185
И.В. Огнева, М.В. Бурцева, М.А. Усик, Н.С. Бирюков, Ю.С. Жданкина, О.И. Орлов, В.Н. Сычев Подвижность сперматозоидов плодовой мушки в гипомагнитных и микрогравитационных условиях	185
Т.Ю. Плюснина, С.С. Хрущев, А.С. Маслаков, А.А. Волгушева, Н.С. Дегтерева, Т.К. Антал, Г.Ю. Ризниченко Оценка гетерогенности размера антенны фотосистемы 2 в условиях стресса	186
А.А. Попова, Р.А. Беданок О расчете кривой электрокоагуляционной очистки природных вод	187
А.А. Попова, Р.А. Беданок О кинетике электрокоагуляционной очистки природных вод	188
Е.Н. Скуратовская, Ю.В. Дорошенко, А.Д. Сербин, Д.М. Полевой, М.А. Ковалева, Ж.А. Шевцова Оценка экологического состояния прибрежных акваторий по биологическим показателям	189
А.А. Солдатов, И.А. Парфенова Скелетные мышцы морских рыб и молекулярные системы утилизации кислорода	190
Д.С. Стребков, М.И. Будник, Л.М. Апашева, А.В. Лобанов, Е.Н. Овчаренко Получение экологически чистых растворов пероксида водорода при высокоэнергетическом бесконтактном воздействии на воду и их применение	191
Д.А. Тодоренко, Д.Н. Маторин, Т.К. Антал Сравнительный анализ действия кадмия и хрома на световые реакции фотосинтеза гороха (<i>Pisum sativum</i> L.)	192
Я.В. Трофименко, О.В. Калинин, В.Д. Чиванов, А.Н. Калинин, С.Н. Данильченко Исследование влияния рентгеновского излучения на прорастание и синтез пигментов у <i>Raphanus sativus</i>	192
С.С. Хрущев, Т.Ю. Плюснина, И.В. Конюхов, А.Е. Соловченко, Г.Ю. Ризниченко Анализ ответа фотосинтетического аппарата на действие факторов стресса по данным индукции флуоресценции хлорофилла <i>a</i>	193
АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ	194

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫХ ПЕПТИДОВ ОВОКИНИНА (2-7) И ЕГО АНАЛОГА НОВОКИНИНА

Comparative Study of Particularities of Spatial Organization of Antihypertensive peptides Ovokinin (2-7) and its Analog Novokinin

Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, gulshen@mail.ru

Для выяснения механизма биологического эффекта, необходимо знание пространственного строения и конформационных возможностей пептидного биорегулятора и его эффективных структурных аналогов. Новокинин активный антигипертензивный пептид, аминокислотная последовательность которого является производной от участка 359-364 молекулы овальбумина, соответствующей минимальной последовательности молекулы овокинина, существенно понижающей артериальное давление [1-3]. Молекулы новокинина является структурным аналогом молекулы овокинина (2-7). Обе молекулы состоят из шести аминокислотных остатков. Аминокислотные последовательности молекул овокинина (2-7) и новокинина представлены в Таблице. Знание конформационных возможностей функционально активного пептида позволит вести более целенаправленный поиск его эффективных аналогов, поскольку именно стерическое соответствие в конечном счете обеспечивает специфичность связывания с рецептором В данной работе было проведено сравнительное исследование пространственного строения и конформационных свойств молекул овокинина (2-7) и новокинина методом молекулярной механики. Расчет стабильных конформаций пептидов проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работах [4,5].

Таблица 1. Аминокислотная последовательность антигипертензивных пептидов

№	Пептид	Аминокислотная последовательность	Обозначение
1	Овокинин (2-7)	Arg – Ala – Asp – His – Pro – Phe	RADHPF
2	Новокинин	Arg – Pro – Leu – Lys – Pro – Trp	RPLKPW

В результате расчетов было показано, что в слабополярной среде пептиды предпочтительно формируют похожие стабильные структуры, для которых характерна вытянутая с двумя загибами конформация пептидной цепи. Было показано, что предпочтительная конформация этих пептидов стабилизируется эффективным электростатическим взаимодействием с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы С-терминальной части и гуанидиновой группы боковой цепи аргинина.

В результате сравнительного исследования двух структурно гомологичных пептидов, овокинина и новокинина, были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях молекул. На основе полученных параметров были составлены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформаций овокинина (2-7) и новокинина. Данное исследование позволило определить все стабильные конформационные состояния двух гексапептидных пептидов, сопоставление которых дает возможность выделить структурные критерии, возможно необходимые для создания лекарственных препаратов пригодных для клинического использования.

1. Yamada Y., Yamauchi D., Usui H., Zhao H., Yokoo M., Ohinata K., Iwai M., Horiuchi M., Yoshikawa M. Hypotensive activity of novokinin, a potent analogue of ovokinin (2-7), is mediated by angiotensin AT(2) receptor and prostaglandin IP receptor // *Peptides*, 2008, vol. 29 (3), pp. 412-418.

2. Yoshikawa M., Ohinata K., Yamada Y. The pharmacological effects of novokinin; a designed peptide agonist of the angiotensin AT2 receptor // *Curr. Pharm. Des.*, 2013, vol. 19 (17), pp. 3009-3012.

3. Yamada Y., Yamauchi D., Yokoo M., Ohinata K., Usui H., Yoshikawa M. A potent hypotensive peptide, novokinin, induces relaxation by AT2- and IP-receptor-dependent mechanism in the mesenteric artery from SHR // *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2008, vol. 72 (1), pp. 257-259.

4. Maksumov I.S., Ismailova L.I., Godjaev N.M. The program for semiempirical calculation of conformations of the molecular complexes // *J. Struct. Khim. (Russian)*, 1983, vol. 24, pp. 147-148.

5. Agaeva G.A., Agaeva U.T., Godjaev N.M. The spatial organization of human hemokinin-1 and mouse/rat hemokinin-1 molecules // *Biophysics (Russian)*, 2015, vol. 60, pp. 365-377.

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЫ ГИЛАМБАТИНА И ЕГО ФРАГМЕНТОВ

Conformational Peculiarities of Tachykinin Peptide Hylambatin and its Fragments

Агаева Г.А., Сеферли Г.Р., Годжаев Н.М.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, gulshen@mail.ru

Молекула гиламбатина по своей структуре и функциональным свойствам относится к тахикининовым нейропептидам. Гиламбатин состоит из двенадцати аминокислотных остатков и впервые был выделен из кожи африканской лягушки *Hylambates maculatus* [1]. Однако в отличие от других тахикининов, гиламбатин обладает остатком метионилметионина на С-конце, а не С-концевым трипептидом -Gly-Leu-Met-NH₂, который до сих пор был характерной особенностью всех членов семейства тахикининов. Кроме того, было показано, что вводимый внутривенно гиламбатин значительно повышает уровень глюкозы и инсулина в плазме крови, но на секрецию глюкагона то не влияет [1]. Этот механизм действия не наблюдается у других тахикининовых нейропептидов и тем самым если в ткани млекопитающих присутствует гиламбатин, то, он может играть существенную роль в регуляции углеводного обмена. Молекула гиламбатина оказалась более активной по отношению к тахикининовым рецепторам NK1 и NK2, чем другие тахикинины. В работе [2] было проведено исследование структурно-функциональных взаимосвязей 12 фрагментов гиламбатина на сократительную активность гладкой мускулатуры. Было установлено, все фрагменты С-концевой части молекулы проявляет в той или иной степени данную активность нативной молекулы. Поэтому создание высокоактивных антагонистов рецепторов NK1 и NK2 на основе гиламбатина позволит блокировать или стимулировать его физиологические воздействия в лечении ряда заболеваний.

В данной работе было проведено исследование конформационных свойств молекулы гиламбатина на основе фрагментарного анализа, методом молекулярной механики. Расчет стабильных конформаций пептидов проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работах [4,5].

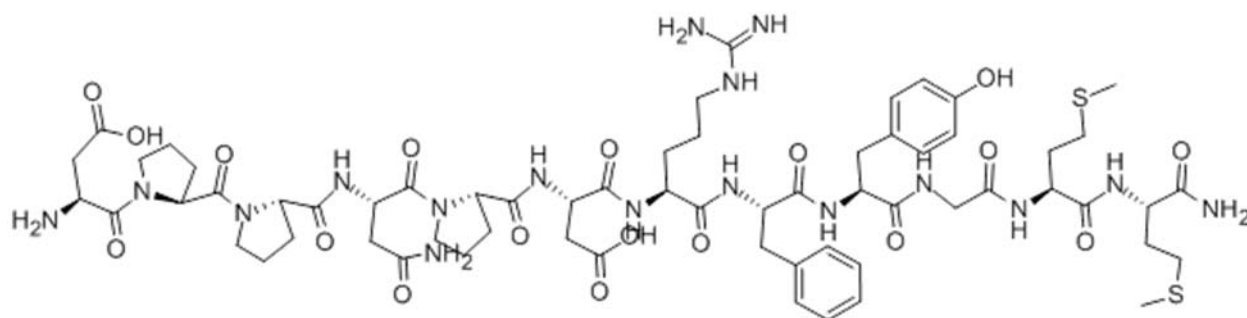


Рисунок 1. Первичная структура тахикининового пептида гиламбатина DPPDPNRFYGMMAмид

Расчет стабильных конформационных состояний фрагментов молекулы позволил определить локальные спиральные сегменты и их взаимную ориентацию их в энергетически предпочтительных конформационных состояниях молекулы. В полученных стабильных конформационных состояниях были уточнены и энергетически оценены взаимовыгодные взаимодействия боковых цепей остатков и водородные связи. На основе рассчитанных значений двугранных углов были построены визуальные модели энергетически предпочтительных конформационных состояний исследуемых участков молекулы гиламбатина.

1. Güllner H.G., Harris V., Yajima H., Unger R.H., Hylambatin, a structurally unique tachykinin: effects on insulin and glucagon secretion // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 1984, vol. 272(2), pp. 304-309.

2. Inoue A., Fukuyasu T., Nakata Y., Yajima H., Nomizu M., Inagaki Y., Asano K., Segawa T. Structure-activity relationship of hylambatin and its fragments as studied in the guinea-pig ileum // Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1988, vol. 40, iss. 1, pp. 72-73.

3. Maksumov I.S., Ismailova L.I., Godjaev N.M. The program for semiempirical calculation of conformations of the molecular complexes // J. Struct. Khim. (Russian), 1983, vol. 24, pp. 147-148.

4. Agaeva G.A., Agaeva U.T., Godjaev N.M., The spatial organization of human hemokinin-1 and mouse/rat hemokinin-1 molecules // Biophysics (Russian), 2015, vol. 60, pp. 365-377.

**ВЛИЯНИЕ ДЛИНЫ ВОЛНЫ И ИНТЕНСИВНОСТИ ВОЗБУЖДАЮЩЕГО СВЕТА НА
ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ СИСТЕМ ФОТОДИТАЗИН-ПЛЮРОНИК
F127 В МОДЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ ФОТООКИСЛЕНИЯ**
**The Influence of Wavelength and Light Intensity on the Photosensitizing Activity of Fotoditazin-Pluronic F127
Systems in Tryptophan Photooxidation**

Аксенова Н.А., Глаголев Н.Н., Курьянова А.С., Тимашев П.С., Соловьева А.Б.

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва, РФ
Институт регенеративной медицины, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва, РФ, naksenova@mail.ru

Процесс генерации синглетного $^1\text{O}_2$ и других активных форм кислорода (АФК) возбужденными фотосенсибилизаторами (ФС) лежит в основе фотодинамической терапии (ФДТ) – метода лечения злокачественных опухолей, а также неонкологических локализованных инфекций (гнойных ран, пролежней, трофических язв) [1]. Метод основан на введении фотосенсибилизирующего препарата в патогенные ткани организма с последующим облучением пораженных участков светом с определенной для каждого ФС длиной волны. Следует отметить, что ФДТ новообразований и локализованных инфекций подразумевает не только прямые воздействия на патологические ткани с некрозом или апоптозом пораженных клеток, но и фотоиндуцируемую динамику последующих регенеративных процессов. В частности, было отмечено локальное повышение гуморального и клеточного иммунитета у онкологических больных при проведении фотодинамической терапии [2]. Эти результаты свидетельствуют об иммуностимулирующем действии ФДТ. Именно по этой причине энергетические воздействия при ФДТ, в том числе при лечении инфицированных ран, следует оптимизировать, чтобы инициировать, но не подавлять возможности регенеративных систем организма. Для возбуждения фотосенсибилизаторов используют одну из полос поглощения ФС в видимом или ближнем инфракрасном диапазоне спектра. При лечении опухолей используется красный (инфракрасный) свет, поскольку так называемое «окно прозрачности» биологических тканей заключено приблизительно между 600 нм и 1200 нм [3]. В то же время при ФДТ поверхностных гнойных ран или других инфекционно-воспалительных процессов, где для эффективного лечения не требуется проникновения света вглубь тканей, возможно использование для фотовозбуждения ФС сине-зеленой области спектра, где, как правило, у фотосенсибилизаторов более интенсивные полосы поглощения [4]. Такие особенности дают еще одну возможность регулировать световые воздействия при ФДТ и, тем самым, создавать условия для оптимального инициирования последующих регенерационных процессов. Контролируемое понижение уровня световых воздействий при ФДТ также возможно в связи со снижением концентрации фотосенсибилизатора фотодитазина, солюбилизованного плюроником F127, что крайне важно и для снижения фототоксичности таких соединений [5].

В данной работе показано, что решение указанных проблем ФДТ частично может быть найдено на основе физико-химических исследований фотосенсибилизированного окисления модельных органических субстратов при использовании различных типов ФС систем. Конкретно, в данной работе при исследовании реакции окисления триптофана проведен сопоставительный анализ фотостабильности фотодитазина (ФЗ) (одного из наименее токсичных ФС из используемых в клинической практике ФДТ в настоящее время) и его активности в процессах фотогенерации синглетного $^1\text{O}_2$ кислорода при возбуждении светом разной мощности при $\lambda = 400$ нм и 660 нм – длинах волн, соответствующих двум наиболее интенсивным полосам поглощения ФЗ в видимой области. При этом было исследовано влияние плюроники F-127, одного из наиболее известных амфифильных полимеров, используемых в лекарственных формах для ФДТ совместно с ФС [5], на скорость процессов фотоокисления триптофана и фотодеструкции ФС. Ранее нами было показано [5], что совместное использование ФС с плюроником F-127 повышает активность ФС в 10-30 раз при фотовоздействии на культуры раковых клеток, а также в экспериментах *in vivo* при ФДТ опухолей поверхностной локализации и модельные раны у животных.

1. Brown S.B., Brown E.A., Walker I. The Present and Future Role of Photodynamic Therapy in Cancer Treatment // *The Lancet Oncol.*, 2004, vol. 5, pp. 497-508, DOI: 10.1016/S1470-2045(04)01529-3.
2. Canti G., De Simone A., Korbelik M. Photodynamic Therapy and the Immune System in Experimental Oncology // *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, vol. 1, pp. 79-80, DOI: 10.1039/b109007k.
3. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия рака. Успехи химии порфиринов. Т.1. СПб: НИИ химии СПбГУ, 1997, с. 357-374.
4. Ablon G. Phototherapy with light emitting diodes // *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, 2018, vol. 11, iss. 2, pp. 21-27. PMID: PMC5843358. PMID: 29552272.
5. Aksenova N.A., Zhientaev T.M., Brilkina A.A., Dubasova L.V., Ivanov A.V., Timashev P.S., Melik-Nubarov N.S., Solovieva A.B. Polymers as enhancers of photodynamic activity of chlorin photosensitizers for photodynamic therapy // *Photon. Lasers Med.*, 2013, vol. 2, iss. 3, pp. 189-198, DOI: 10.1515/plm-2013-0011.

О БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОСНОВЕ ЕСТЕСТВЕННОГО БИЛИНГВИЗМА On the Biological Basis of Natural Bilingualism

Александрова Н.Ш.

Общество «Языковой мост», г. Берлин, Германия, nina.alexandrova@gmx.net

Известно, что маленький ребенок может стать двуязычным, если с ним говорить на двух языках. Конкретные ситуации двуязычного воспитания легко наблюдаемы и многократно описаны. Может сложиться впечатление, что именно то, как говорят с ребенком, т.е. социальные факторы, полностью определяют успешность становления двуязычия. В тени остается биологическая основа билингвизма, т.е. изменения, происходящие непосредственно в нервной системе ребенка под влиянием необходимости общаться на двух языках. Теоретическими опорами работы являются: гипотеза созревания [1], концепция процедурной – декларативной памяти [2], представление о естественном билингвизме как о нестабильном состоянии, для которого характерны языковые аттриции, т.е. обеднение или полное стирание одного из языков [3,4]. Основой работы являются наблюдения становления языка и речи в условиях двуязычной среды и анализ литературы.

Организация распространенных в настоящее время в России программ раннего языкового развития (например, обучение младенцев пяти языкам с двух месяцев) предполагает, что можно «запустить» развитие нескольких языковых каналов, если с самого раннего возраста создать вокруг ребенка многоязычную среду. При этом закономерности становления языка в одноязычной среде, которое происходит как саморазвитие [1,5], переносятся, по умолчанию, на процесс языкового развития в многоязычной среде. Но практика показывает, что два или несколько языков не растут параллельно и одновременно. Языковое развитие в многоязычной среде является процессом, напоминающим проявление странного аттрактора: стремление к осуществлению генетической программы (как при одноязычном воспитании) дополняется еще двумя аттракторами – стремлением языковой системы обеспечить коммуникацию на всех необходимых для общения языках (возможно потому, что вербальная коммуникация – специфика вида *Homo sapiens*) и стремлением стереть один из языков, т.е. вернуться к одноязычию (как к более экономному функционированию?). При неблагоприятном сочетании внешних факторов и состояния ребенка возможны задержки развития обоих языков [6].

Дети, находящиеся в двуязычной среде, могут:

- игнорировать второй язык и остаться одноязычными, хотя ежедневно слышат оба языка. Второй язык осваивается только в том случае, если он необходим для общения, иначе остается для ребенка лишь звуковым фоном. Двуязычная среда – необходимое условие, но не причина двуязычия.

- осваивать оба языка, но с выраженным преобладанием одного из них. Сильный язык при этом приближается к одноязычной норме, второй долгое время остается слабым.

- сбалансированный, т.е. приблизительно равный по времени, вход каждого из языков в возрасте до трех лет приводит к недостаточному словарю в обоих языках [7]. Наиболее сложным моментом при двуязычном воспитании является переход к фразовой речи, когда может затормозиться освоение обоих языков.

Необходимо отметить, что младенчество – чрезвычайно важный этап развития ребенка, но это этап именно доречевой, т.е. ребенок понимает интонации, мимику, жесты, взгляды окружающих, но не значения слов. А билингвизм – это, прежде всего, понимание двух языков, когда предмет, действие, явление связываются не с одним словом, а с двумя словами в разных языках. До девяти месяцев мозг ребенка не может осуществлять данную функцию даже в одном языке. Поэтому многоязычие вокруг младенца не может привести к освоению языков. Естественный билингвизм вызывается социальным явлением – необходимостью общения на двух языках. Под влиянием этой необходимости (неявной мотивации) происходит биологическая адаптация. Как и другие природные адаптации, она имеет возвратный механизм – языковые аттриции. Стать естественным билингом может любой человек, который может говорить. В доречевой, младенческий период жизни билингвизм невозможен.

1. Lenneberg E. Biologische Grundlagen der Sprache. Frankfurt: Suhrkamp, 1972.

2. Paradis M. A Neurolinguistic Theory of Bilingualism. Amsterdam / Philadelphia John Benjamins, 2004.

3. Александрова Н.Ш. Родной язык, иностранный язык и языковые феномены, у которых нет названия // Вопросы языкознания, 2006, № 3, с. 88-100.

4. Александрова Н.Ш. Исчезновение языков, естественный билингвизм и нелинейная динамика // VIII конф. по когн. науке: тезисы докладов, Светлогорск, 18-21 окт. 2018 г., с. 35-37.

5. Ушакова Т.Н. Речь: Истоки и принципы развития. М., 2004.

6. Александрова Н.Ш., Антонен В.А., Нуйдель И.В., Шемагина О.В., Яхно В.Г. Моделирование режимов спонтанного освоения нескольких языков как инструментов общения // Нелинейная динамика в когнитивных исследованиях, 2019, с. 27-30.

7. Hoff E., Core C. Input and Language Development in Bilingually Developing Children // Semin Speech Lang., 2013, vol. 34, pp. 215-226, Doi: 10.1055/s-0033-1353448.

LED RGB ИСТОЧНИК ПРОХОДЯЩЕГО СВЕТА В МИКРОСКОПИИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

LED RGB Transluminescence Light Source to Improve Cell Imaging

Асташев М.Е., Серов Д.А.

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, astashev@yandex.ru

При разработке микроскопической системы для анализа гетерогенности клеточных популяций, с возможностями, аналогичными флуориметру, актуальной задачей является реализация канала измерения, аналогичного каналу рассеяния, который позволяет оценивать размер и форму клеток. В микроскопии близким решением является канал проходящего света с такими средствами контрастирования как фазовый контраст и DIC. Такие методы контрастирования основаны на измерении сдвига фазы света, которая зависит от длины волны источника света. В настоящий момент доступным способом реализации многоцветного освещения является конструкция источника света на основе компонентов мультимедийного. В наших исследованиях функций pAChR в мембранах нейтрофилов мы используем трехканальный источник проходящего света. Источник RGB света включает из светодиоды Thorlabs (M470D3, M565D2, M625D3), асферические конденсорные линзы ACL3026U и дихроичский куб для мультимедийных проекторов размером 22x22 мм. Данный куб позволяет объединять в единый оптический путь три источника освещения с полосами излучения в стандартных синей, зеленой и красной областях, оптимизированных для цветовосприятия человека. Все оптические компоненты смонтированы в алюминиевом корпусе с 3D-печатными адаптерами. Изображения получены с помощью инвертированного микроскопа Motic AE31T, объектива 10x и цифровой камеры SDU-285 (ООО «СпецТелеТехника, Москва, Россия) с использованием программного обеспечения WinFluorXE. Драйверы светодиодов (источники постоянного тока и система управления) были разработаны авторами.

Суть метода получения изображения заключается в последовательном экспонировании образца при освещении каждым из светодиодов и формировании изображения в виде взвешенной суммы изображений. Весовые коэффициенты могут быть подобраны для конкретной задачи и объекта по усилению контраста интересующих структур.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ проект 17-00-00058 в рамках проекта 17-00-00064 (КОМФИ).

О ЛОКАЛИЗАЦИИ СПИРАЛЕЙ И СУПЕРСПИРАЛЕЙ В БЕЛКАХ

On the Localization of Helices and Superhelices in Proteins

Багрова О.Е., Малышко Е.В., Твердислов В.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, o-bagrova@mail.ru

Выяснение физических принципов формирования уникальных структур биомакромолекул и механизмов их функционирования на протяжении десятилетий остаётся актуальной проблемой молекулярной биофизики. Фундаментальные вопросы относительно механизмов внутримолекулярного и надмолекулярного структурообразования, работы макромолекул как молекулярных машин также остаются в значительной степени невыясненными.

Настоящая работа посвящена выявлению закономерностей в распределении вторичных структур, образующих динамичный каркас белковых молекул. Учитывается знак хиральности исследуемых структур. А само явление хиральности, как мы считаем, играет одну из ключевых ролей в фолдинге белка [1].

Проведён анализ распределения вторичных структур и суперспиралей типа *coiled coil* в полипептидных цепях белков различных функциональных классов на основе материалов электронной базы данных Protein Data Bank (PDB) [2]. Анализ и сравнение нескольких цепей четвертичной структуры одного белка позволили получить более достоверный результат для распределения вторичных структур по полипептидной цепи класса и отдельного белка. Результаты анализа представлены в виде графиков распределения вторичных структур и суперспиралей типа *coiled coil* по полипептидной цепи.

Рассмотрены восемь функциональных классов белков в соответствии с классификацией PDB: белки вирусов (всего исследовано 109 белковых цепей, из которых уникальных – 26), шапероны (40 цепей, уникальных – 15), изомеразы (39 цепей, уникальных – 17), оксидоредуктазы (141 цепь, уникальных – 42), гидролазы (90 цепей, уникальных – 41), структурные (29 цепей, уникальных – 22), белки экзо- и эндоцитоза (9 цепей, уникальных – 6) и белки транспорта электронов (8 цепей, уникальных – 5). Таким образом, суммарно проанализировано 174 уникальные белковые структуры, рассмотрено 465 цепей, состоящих из более 145 тысяч аминокислотных остатков. Показано, что в данной подборке 31% аминокислотных остатков не образует регулярные вторичные структуры, 57% входят в спирали, 53% из которых приходится на α -спирали и 4% на спирали 3_{10} , 12% остатков образуют β -листы. Все исследованные спирали были правозакрученными.

У белков исследованных групп замечено общее свойство: в начале и в конце цепей наблюдается преобладание нерегулярных участков, что согласуется с упрощенным представлением о белковой глобуле как о гидрофобном ядре в гидрофильной оболочке.

В настоящей работе выявлены некоторые закономерности и особенности в распределении вторичных структур и суперспиралей *coiled coil* по полипептидным цепям белков исследованных функциональных классов. Полученные данные относительно распределения в белковых глобулах упомянутых выше жестких молекулярных конструкций, по всей вероятности, могут продвинуть развитие концепции «белок-машина», причем не только в представлениях о «рычагах», «шарнирах» и «балках», но и в новых соображениях о машинах как о хиральных образованиях и о вентильных спиральных конструкциях в них.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-00082).

1. Tverdislov V.A., Malyshko E.V. On regularities of spontaneous formation of structural hierarchies in chiral systems of non-living and living nature // Phys. Uspekhi, 2019, vol. 189, pp. 375-385, DOI: 10.3367/UFNe.2018.08.038401.

2. RCSB PDB: <http://www.rcsb.org>.

ГЕТЕРОАССОЦИАЦИЯ МОЛЕКУЛ ТИАЗИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ И КОФЕИНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Heteroassociation of Thiazine Dye Molecules and Caffeine in Aqueous Solution

Барановский С.Ф., Чернышев Д.Н., Албет М.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, sfbar@yandex.ru

Изучение разнородной ассоциации биологически активных гетероциклических молекул в водном растворе с определением структурных особенностей гетерокомплексов важно для понимания взаимодействия подобных молекул как между собой, так и с биополимерами. Одним из наиболее чувствительных методов исследования нековалентного связывания молекул является электронная спектроскопия, позволяющая получить информацию о структурных параметрах образующихся ассоциатов. При этом существенное значение имеет обработка экспериментальных данных, базирующаяся на решении соответствующих обратных задач.

В работе изучена ассоциация молекул тиазинового красителя - метиленового голубого (МГ) и кофеина в водном растворе методами спектрофотометрии. Краситель МГ относится к классу биологически активных веществ, способных связываться с молекулами нуклеиновых кислот. Чувствительность МГ к различным конформационным перестройкам молекул ДНК в ядрах клеток позволяет использовать его в качестве меток при изучении структурных изменений молекул биополимеров. Кофеин способен «перехватывать» ароматические красители посредством гетероассоциации, изменяя тем самым их медико - биологическую активность.

При интерпретации экспериментальных данных использована димерная модель, в которой рассматриваются реакции самоассоциации и образования комплексов 1:1 при гетероассоциации молекул. Модель основывается на законе аддитивности поглощения света и уравнениях теории химических равновесий, позволяющих связать общие концентрации веществ с их равновесными концентрациями в различных молекулярных формах, а также равновесными константами ассоциации.

При совместной обработке экспериментальных спектров поглощения смеси гетероциклических молекул методом регуляризации проведено разложение спектра на отдельные компоненты [1]. Максимум спектра поглощения МГ, входящего в состав гетерокомплекса, смещен относительно полосы свободных молекул МГ (664 нм) в длинноволновую сторону на 4 нм. Димерная составляющая красителя содержит две полосы поглощения, смещенные в разные стороны по отношению к максимуму поглощения мономеров МГ.

По данным спектральной полосы комплекса «МГ + кофеин», а также структур гетерокомплексов, образуемых кофеином с молекулами, подобными МГ [2,3], выполнена оценка структурных параметров разнородного димера «МГ + кофеин» в диполь - дипольном приближении. Расстояние и угол между точечными дипольными моментами переходов молекул в гетерокомплексе составляют 0,34 нм и 38° соответственно. Эти параметры в значительной степени зависят от структурных особенностей хромофоров ассоциирующих молекул и их дипольных моментов переходов. Детальный анализ ассоциации гетероциклических молекул важен для выяснения сиквенс - специфичного взаимодействия лигандов с биополимерами.

1. Барановский С.Ф., Чернышев Д.Н. Гетероассоциация молекул кофеина и фенантридинового красителя в водном растворе // Журн. прикл. спектр., 2018, т. 85, № 4, с. 532-537.

2. Davies D.B., Veselkov D.A., Djimant L.N., Veselkov A.N. Hetero-association of caffeine and aromatic drugs and their competitive binding with a DNA oligomer // Eur. J. Biophys., 2001, vol. 30, pp. 354-366.

3. Larsen R.W., Jasuja R., Hetzler R., Muraoka P.T., Andrada V.G., Jameson D.M. Spectroscopic and molecular modelling studies of caffeine complexes with DNA intercalators // Biophys. J., 1996, vol. 70, pp. 443-452.

АЛЬГИНАТНЫЕ ГИДРОГЕЛИ ДЛЯ СОВРЕМЕННЫХ ПРИРОДООХРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Alginate-based composites for modern environmental technologies

Богданова Л.Р.¹, Макарова А.О.¹, Зуева О.С.², Зуев Ю.Ф.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ «Казанский научный центр РАН», г. Казань, РФ, tat355@mail.ru

² Казанский государственный энергетический университет, г. Казань, РФ

Восстановление окружающей среды, загрязненной дымовыми выбросами и промышленными стоками требует развития инновационных технологий очистки воздуха, воды и сточных вод. В последнее время большое внимание уделяется разработке высокоэффективных адсорбентов [1], в том числе композиционных материалов, приготовленных на основе природных биополимеров [2]. Подобные материалы демонстрируют возможности удаления промышленных красителей, тяжелых металлов, антибиотиков, пестицидов и других загрязнителей из воды и сточных вод. Для адсорбции тяжелых металлов из сточных вод с успехом могут быть использованы природные полисахариды, такие, например, как альгинат натрия и хитозан, содержащие карбоксильные, гидроксильные и другие активные функциональные группы, которые могут реагировать с тяжелыми металлами посредством ионного обмена или за счет образования комплексов. В связи с этим активно исследуют адсорбционные свойства гидрогелей и композиционных материалов на их основе. Наиболее часто скорость адсорбции/десорбции инкапсулируемых соединений регулируют, изменяя состав гидрогелей, плотность полимерных сшивок и содержание воды. Создание композиционных гидрогелей, содержащих наноразмерные частицы, например, углеродные нанотрубки, привело к лучшему удерживанию красителя внутри капсул за счет создания физической сетки вокруг ее кристаллов [3].

Альгинатный гидрогель может быть использован не только в качестве материала, адсорбирующего тяжелые металлы и токсичные органические соединения. Гораздо более эффективным сорбентом являются приготовленные на его основе металл-альгинатные микросферы, используемые в качестве иммобилизирующего носителя для поддержания биологической активности микроорганизмов и ферментов, способных к биосорбции ионов тяжелых металлов и красителей [4]. Следует отметить, что разработка технологии приготовления полисахаридных микросфер создала множество возможностей модификации их структуры и свойств за счет изменения условий в процессе приготовления, вариантов обезвоживания (аэрогели, криогели, ксерогели), использования различных композиционных гидрогелей и их комбинированного использования с другими материалами. Соответственно, резко выросло число сфер возможного применения данных материалов, включая инкапсуляцию и доставку фармакологических средств, тканевую инженерию, удаление пестицидов и антибиотиков, контролируемое внесение питательных веществ и средств защиты растений, улучшение структуры почв и т.д.

Целью данной работы явилось изучение возможностей использования композиционных гидрогелей на основе солей альгиновой кислоты и отечественного углеродного материала Таунит для разработки новых материалов для современных природоохранных технологий. В частности, нами исследовано изменение размеров и морфологии ячеек микросфер, приготовленных на основе альгинатных гидрогелей в присутствии различных сшивающих ионов (двухвалентных катионов различных металлов), проанализированы их элементный состав и некоторые особенности структурообразования. Приготовлены кальций-альгинатные микросферы, модифицированные углеродными нанотрубками наноматериала Таунит, диспергированными в растворе желатины. Возможности применения сконструированных материалов в качестве сорбента и изменения его свойств, вызванные добавлением углеродного наноматериала, проанализированы на основе изучения контролируемого высвобождения модельных загрязнителей, таких, как синтетические красители Бриллиантовый зеленый, Метиловый оранжевый, Флуоресцеин изотиоцианат и Берлинская лазурь. Было установлено, что армирование альгинатного гидрогеля углеродными нанотрубками приводит к изменению его структурных характеристик, выражающемуся в уменьшении размера пор и приобретении внутренней структурой большей однородности. Подобные изменения могут быть использованы для улучшения сорбционных свойств материалов на основе альгинатного гидрогеля.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-38-90085 и Стипендии Президента РФ СП-1165.2019.1.

1. Yagub M.T., Sen T.K., Afroze S., Ang H.M. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: A review // *Advances in Colloid and Interface Science*, 2014, vol. 209, pp. 172-184.

2. Ching S.H., Bansal N., Bhandari B. Alginate gel particles – A review of production techniques and physical properties // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, vol. 57 (6), pp. 1133-1152, DOI: 10.1080/10408398.2014.965773.

3. Vipin A.K., Hu B., Fugetsu B. Prussian Blue Caged in Alginate/Calcium Beads as Adsorbents for Removal of Cesium Ions From Contaminated Water // *J. Hazard. Mater.*, 2013, vol. 93, pp. 258-259.

4. Богданова Л.Р., Макарова А.О., Зуева О.С., Зуев Ю.Ф. Инкапсуляция диагностических красителей в полисахаридной матрице, модифицированной углеродными нанотрубками // Известия Академии наук. Серия химическая, 2020, № 3, с. 590-595, DOI: 10.1007/s11172-020-2803-х.

СТЕРЕОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ОВ-ФОЛДОВ Stereochemical Analysis of OB-Fold Structure

Бражников Е.В., Ефимов А.В

Институт белка РАН, г. Пушкино, РФ, tefg@vega.protres.ru

В настоящей работе проведен стереохимический анализ большой выборки ОВ-фолдов. Этот фолд часто встречается в глобулярных белках, гомологичных и негомологичных. Он состоит из 70-150 аминокислотных остатков, которые уложены в два β -листа, состоящих из 3-х тяжей, которые образуют 6-ти тяжевый β -барель. База данных получена из PDB-банка с помощью программы SCOP. Некоторые белки взяты из ранее созданной нами базы данных PCBOST (система структурной классификации белков). Гомологию белков определяли с помощью программы BLAST. Из разных суперсемейств отобрано 265 представительных доменов. Большинство ОВ-фолдов содержат СП-мотивы с переходными спиралями, которые описаны ранее [1]. В ОВ-фолде длина переходной спирали может достигать 20 и более остатков. На выходе из первого тяжа чаще других встречаются Asn с конформацией $\beta(P)$. На входе второго тяжа часто встречаются остатки Gly с конформацией $\alpha(L)$ или ϵ . Проведено структурное выравнивание аминокислотных последовательностей для гомологичных и негомологичных ОВ-фолдов, что позволило определить ключевые позиции, в которых должны находиться гидрофобные, гидрофильные, глициновые и пролиновые остатки.

Проведено сравнение структур ОВ-фолдов и SH3-доменов. Оказалось, что хотя топологии SH3-подобных доменов [2] и ОВ-фолдов довольно схожие, длины спиралей в переходах из одного слоя в другой сильно различаются. Конформации остатков в переходных петлях также различаются в этих двух структурах.

Полученные данные помогут в предсказании пространственной структуры белков.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00453.

1. Efimov A.V. Structural motifs in which β -strands are clipped together with the П-like module // Proteins: Structure, Function and Bioinformatic, 2017, vol. 85, pp. 1925-1930.

2. Каргатов А.М., Бражников Е.В., Ефимов А.В. L-модули в SH3-подобных фолдах: Структура и особенности последовательностей // Молекулярная биология, 2018, т. 52, с. 1074-1081.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУР НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПОНЕНТОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ СИСТЕМЫ СИБИРСКИХ ЭНХИТРЕИД *HENLEA SP.* Structural Studies of Low-Molecular-Weight Components of Bioluminescence System of Siberian Enchytraeids *Henlea sp.*

Вавилов М.В.¹, Петушков В.Н.², Родионова Н.С.²

¹ ФГБУН Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
г. Москва, РФ, vaymat1996@gmail.com

² Институт биофизики СО РАН, ФИЦ «Красноярский научный центр», г. Красноярск, РФ, valnat@yandex.ru

В 2002 году в Сибири были обнаружены биолюминесцентные энхитреиды рода *Henlea* [1], содержащие на поверхности тела люминесцирующие клетки и выделяющие светящуюся слизь в ответ на раздражение. Первичные исследования показали, что биолюминесцентная система *Henlea sp.* включает в себя люциферин, люциферазу, кислород и ряд низкомолекулярных компонентов.

В процессе хроматографической очистки люциферина *Henlea sp.* было зарегистрировано резкое снижение суммарной люминесцентной активности, которую, однако, удалось восстановить добавлением в реакцию люциферин-люцифераза низкомолекулярного экстракта из биомассы исследуемых энхитреид. В ходе многочисленных экспериментов, направленных на разделение и очистку низкомолекулярной фракции *Henlea sp.*, были выделены вещества не установленного состава, выполняющие функции активаторов люциферина, названные “Активатор Н” и “Активатор S” [2]. Было установлено, что активаторы флуоресцируют с максимумом длины волны 464 нм (рис. 1б), что совпадает с максимумом биолюминесценции *Henlea sp. in vivo* (рис. 1а). Флуоресцентные свойства активаторов, в сочетании с их способностью многократно усиливать биолюминесцентный сигнал, указывали, что именно они выполняют роль эмиттеров в реакции биолюминесценции *Henlea sp.* Спектральные и хроматографические данные *ActH* и *ActS* довольно схожи (рис. 2), что говорит о вероятном структурном сходстве активаторов, возможно, содержащих ароматические группы.

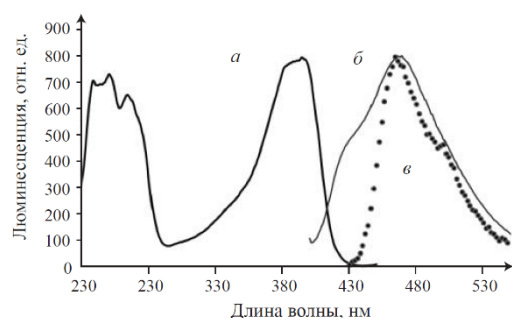


Рисунок 1. Спектры (а) возбуждения и (б) эмиссии Act H, и (в) билюминесценции *Henlea sp. in vivo*

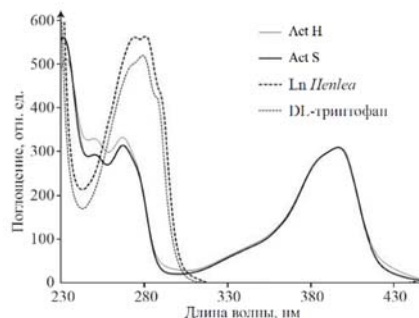


Рисунок 2. УФ-спектры высокоочищенных активаторов, люциферина *Henlea sp.*

Масс-спектрометрия высокого разрешения активаторов билюминесценции *Henlea sp.* выявила $[M-H]^-$ пик *ActH* с $m/z = 362,0986$, что соответствует брутто-формуле $C_{16}H_{16}N_3O_7^-$ и $[M-H]^-$ пик *ActS* с $m/z = 442,0589$, что соответствует формуле $C_{16}H_{16}N_3O_{10}S^-$. Сравнительный анализ ВЭЖХ-МС спектров активаторов выявил идентичность паттернов фрагментации этих молекул и показал наличие сульфо-группы в структуре *ActS*. Это позволило предположить, что *ActS* является сульфо-производным молекулы *ActH*.

Дальнейшее исследование активаторов методами ЯМР-спектроскопии позволит установить точные структуры этих молекул, а также поможет прояснить их место и роль в процессе билюминесценции сибирской энхитреиды *Henlea sp.*

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-00348 А.

1. Петушков В.Н., Родионова Н.С., Пуртов К.В., Бондарь В.С. Люминесцентная система почвенных энхитреид *Henlea sp.* (Annelida: Clitellata: Oligochaeta: Enchytraeidae) // ДАН, 2002, т. 385, № 3, с. 416-418.

2. Петушков В.Н., Родионова Н.С. Низкомолекулярные участники люминесцентной реакции сибирской энхитреиды *Henlea sp.* // ДАН, 2018, т. 481, № 4, с. 451-454.

АНАЛИЗ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПОВЕРХНОСТЬЮ ОДНОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

Analysis of Complexation of Aromatic Biologically Active Compounds with the Surface of Single Wall Carbon Nanotubes

Воронин Д.П., Кальпа В.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, dpvoronin@sevsu.ru

Предлагается новый метод количественного анализа равновесного комплексообразования ароматических молекул с поверхностью ОУНТ в терминах равновесной константы связывания K . Данный подход может быть сведен к уравнению адсорбции Лэнгмюра, широко используемому в настоящее время для исследования комплексообразования биологически активных соединений с ОУНТ. Однако в отличие от подхода Лэнгмюра, предложенный метод не требует отдельных измерений концентраций свободного и связанного биологически активного соединения и позволяет проводить непосредственное определение параметров связывания путем аппроксимации кривых титрования в УФ и видимой области. Уравнения, описывающие предложенную модель, позволяют учитывать любые дополнительные процессы, такие как агрегация УНТ или конкурентное связывание биологически активных соединений, что выходит за рамки стандартного анализа Лэнгмюра. В целом, подход может быть использован в качестве альтернативы, либо дополнения к стандартному анализу Лэнгмюра.

На основе предложенного подхода проведена оценка значений K для типичных ароматических лигандов: доксорубина (DOX), бромистого этидия (EB), метиленового голубого (MB) и профлавина (PF) [1,2]. Величины констант связывания K могут быть использованы для выявления корреляции их значений с физико-химическими и биологическими эффектами комплексообразования лигандов с ОУНТ, и для понимания природы физических факторов, ответственных за связывание. В частности, способность дискриминировать различные биологически активные вещества по их сродству к ОУНТ может иметь важное значение при разработке новых систем доставки лекарственных препаратов в опухоль на основе ОУНТ. Показано, что сравнительный анализ равновесных констант различных лигандов является достоверным только в том случае, если способ получения суспензии ОУНТ одинаков для всех исследуемых лигандов. В этом случае, ошибки в оценке концентрации ОУНТ и в величинах других входных параметров модели связывания не повлияют существенно на оценку относительных значений констант связывания.

Расчетные значения констант связывания имеют порядок величины $10^4 - 10^5 \text{ M}^{-1}$, и исследуемые ароматические лиганды проявляют специфичность по отношению к поверхности ОУНТ, а именно, константы связывания для МВ и DOX отличаются на порядок, причем большее значение K получено для МВ. Наблюдаемая специфичность для случая МВ обусловлена кривизной хромофора лиганда, которая точно повторяет кривизну поверхности ОУНТ, в то время как громоздкие аминокислотные цепи DOX препятствуют образованию комплекса. Важное значение структурного фактора при связывании ароматических биологически активных соединений с ОУНТ, выявленное в работе, значительно расширяет существующие знания о специфике такого комплексообразования, которое основано на утверждении, что адсорбционная способность увеличивается с увеличением площади поверхности биологически активного соединения.

Обнаружено, что стабилизация комплексов Лиганд–ОУНТ происходит, в основном, за счет межмолекулярных ван-дер-ваальсовых и гидрофобных взаимодействий, причем первые дают больший вклад. Суммарный вклад от электростатических сил незначителен вследствие компенсации энергетически выгодного электростатического контакта в комплексе потерей электростатического контакта с водным окружением.

1. Buchelnikov A.S., Voronin D.P., Kostjukov V.V., Deryabina T.A., Khrapaty S.V., Prylutsky Y.I., Ritter U., Evstigneev M.P. Complexation of aromatic drugs with single-walled carbon nanotubes // J. Nanopar. Res., 2014, vol. 16, pp. 2472-14.

2. Buchelnikov A.S., Dovbeshko G.I., Voronin D.P., Trachevsky V.V., Kostjukov V.V., Evstigneev M.P. Spectroscopic study of proflavine adsorption on the carbon nanotube surface // Appl. Spectr., 2014, vol. 68, № 2, pp. 232-237.

МЕХАНИЗМЫ СТРУКТУРООБРАЗОВАНИЯ В ГОМОХИРАЛЬНЫХ БИОМИМЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

Mechanism of Structure Formation in Homochiral Biomimetic Systems

Воронина Л.И.¹, Малышко Е.В.¹, Михалева М.Г.²

¹ Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ, readingfulltime@gmail.com

² Институт химической физики им Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ

Биосфера обладает интересной особенностью, называемой «хиральной чистотой». Суть этого явления заключается в гомохиральности биомолекул, созданной и закреплённой в ходе биологической эволюции, и однозначно реализуемой на генетическом и биосинтетическом уровнях. В работах В.А. Твердислова и др. [1] было показано, что знак хиральности меняется при переходе на более высокий уровень иерархии, что наделяет систему такими свойствами, как детерминированность и устойчивость.

В контексте биофизики, биохимии, биологии и фармакологии асимметричность элементов, входящих в состав живых систем, остается широко обсуждаемым вопросом. Исследуются как возможные пути происхождения гомохиральных биологических систем, так и следствия гомохиральности биомолекул. Для этих целей применяют биомиметики – искусственно созданные материалы, которые имитируют свойства биоматериалов.

В качестве объекта исследования выбраны трифторацетилированные аминокислоты (ТФААС). Они способны образовывать физические гели из низкоконцентрированных растворов путём самоорганизации за счет диполь-дипольного взаимодействия в анизотропное супрамолекулярное волокно, стабилизированное водородными связями и Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями [2]. Волокно состоит из струн, которые образуются таким же способом, как и различные структуры в клетке: крупные струны ТФААС собираются из меньших по размеру, при этом знак хиральности сформировавшихся струн отличается относительно тех, из которых они состоят. В данном случае хиральность молекул играет ключевую роль в структурообразовании, так как из растворов ахирального ТФААС №2 физические гели не образуются.

На данный момент гели, образованные молекулами ТФААС, хорошо изучены при помощи световой, атомно-силовой и электронной микроскопии; построены модели процессов гелеобразования, однако некоторые аспекты требуют дополнительных исследований.

В настоящей работе в девяти экспериментах исследованы полученные при испарении растворителя из растворов ТФААС №7(S) в гептане и циклогексане ксерогели методом оптической микроскопии в проходящем свете, в том числе с использованием поляризаторов.

Показано, что исследуемые системы обладают высокой вариабельностью вследствие чувствительности структурообразования к незначительным изменениям условий кристаллизации, что вызывает множественность типов нуклеаций. В низкоконцентрированных растворах хиральных гелаторов (ТФААС №7(S) в гептане и циклогексане) идентифицирован ряд типов нуклеации: нульмерная, одномерная, инициация кристаллами, смешанный тип нуклеации. Выполнена оценка площади, занимаемой структурами (от $0,7 \pm 0,1\%$ до $18 \pm 7\%$), и среднего размера структур: длины (от $120 \pm 50 \text{ мкм}$ до $250 \pm 50 \text{ мкм}$) или диаметра (от $177 \pm 13 \text{ мкм}$ до $270 \pm 28 \text{ мкм}$).

Исследование биомиметических структур позволяет сформировать представления о биофизических механизмах структурообразования в системах цитоскелета клеток, а также даёт материал для лучшего понимания общих принципов устройства живых систем.

1. Твердислов В.А. и др. Периодическая система хиральных структур в молекулярной биологии // Биофизика, 2017, т. 62, № 3, с. 421-434.
2. Stovbun S.V., Skoblin A.A., Zlenko D.V. Self assembly and gelation in solutions of chiral N-trifluoroacetylated α -aminoalcohols // Chemical Physics, 2018.

ELECTROPHYSIOLOGICAL EFFECTS OF DANDELION-BURDOCK COMPOSITE ON THE PLASMA MEMBRANE OF *CHARA FRAGILIS* CELLS

Hasanova A.E.

Institute of Botany ANAS, Baku, Azerbaijan, ahasanova89@gmail.com

With microelectrode technique there has been studied the regularities of changes of *Chara fragilis* cells membrane potential (φ_m) and resistance (R_m) in the standard conditions and under the influence of Dandelion-Burdock phytocomposite mixture.

The experiments were conducted with internodal cells of *Chara fragilis*, which were collected from a pond called "Katib Bulagy" in the Tovuz region. These plants belong to the family of *Characeae* Ag. *Emand Hollerb* of *Charaphyceae* class [2] and were for the first time used in the electrophysiological research by us [4]. To measure the main electrophysiological parameters, we used the two-electrode Hogg method developed for cells having cylindrical shapes [5]. The length of mature internodal cells of *Chara fragilis* reached 5–8 cm with 0.6–1 mm diameter, thus the large size of these cells allow them to be used for several days in microelectrode studies. The dried powder extract of Dandelion root and Burdock is used as a phytocomposite. The powder extract was bought from the pharmaceutical company "Herba-Flora", Azerbaijan. The composite mixture of these plants was extracted from their powders in an equal ratio with 70% ethanol. The raw materials and extractant in relation to 1:15 were stirred for 10 minutes on a magnetic stirrer at room temperature and filtered. The extraction with the following filtration was repeated three times. The working solutions of the extract were prepared on artificial pond water (APW).

It was found that the stationary values of φ_m and R_m scattered in a rather wide range: $-90 \div -300$ mV and $1 \div 32.6$ Ohm $\cdot$ m², respectively. The average value of φ_m and R_m were accordantly -183 ± 4.9 mV ($n=106$) and 9 ± 1.2 Ohm $\cdot$ m² ($n=45$). The details of the changes of *Chara fragilis* cells electrophysiological parameters in the standart conditions has been widely commented in our previous publications [1, 3].

In the next phase of our experiments, we compared the electrophysiological characteristics of *Chara fragilis* interstitial cells under the influence of the composite solution of *Taraxacum officinale* and *Arctium Lappa L* roots. Electrophysiological effects of Dandelion-Burdock composite mixture (DBC) on membrane potential φ_m and resistance R_m depended on both the concentration of radioprotectors and the physiological state of cells. The lowest concentration of composites that caused the electrophysiological reaction of the PM (threshold concentration) was 10^{-2} mg/ml (10^{-5} kg/l). And besides, the electrophysiological effects of DBC, such as depolarization of the PM at the constant level of R_m , were found only in cells, φ_m which was in the range of activation of the K⁺ - channels of outward rectification (KCOR). The magnitude of the depolarization varied from -75 to -129 mV with an average value of $\bar{\varphi}_m = -103 \pm 2.5$ mV. The recovery of $\bar{\varphi}_m$ was not detected during the removing of radioprotectors from the external environment within 60-80 minutes. In other words, the electrophysiological effect of 10^{-2} mg/ml of composites of the mixture of Dandelion and Burdock on *Chara fragilis* cells, $\bar{\varphi}_m$ which was in the activation range of KCOR, were not reversible. The analysis of electrophysiological characteristics of plant cells shows, that Ca²⁺- channels of the PM can also be in the conducting state in the same range of KCOR activation.

A variety of electrophysiological reactions of *Chara fragilis* cells was observed with the addition of 1 mg/ml concentration of Burdock and Dandelion composites into the composition of artificial pond water. Thus, the presence of 1 mg/ml concentration of Burdock and Dandelion composites caused a slight transient hyperpolarization, which was accompanied by an increase of the membrane resistance by several percent in cells, $\bar{\varphi}_m$ which was in the range of activation of KCOR ($n=7$). When the radioprotector composites were removed from the medium, the electrophysiological parameters of *Chara fragilis* cells were restored.

1. Гасанова А., Наджафалиева Ш., Алиева П., Мусаев Н. Электрофизиологический параметры клеточной оболочки и плазматической мембраны клеток *Chara fragilis* // Advances in Biology & Earth Sciences, Jomard Publishing, 2018, vol. 3, № 1, pp. 60-68.

2. Голлербах В.И., Красавина Л.К. Определитель пресноводных водорослей СССР. Ленинград.: Наука, 1983, 185 с.

3. Hasanova A., Najafaliyeva Sh., Aliyeva P., Musayev N. *Chara fragilis* cells – a new object for electrophysiology research // Baku Engineering University. Chemistry and Biology, 2018, vol. 2, № 1, pp. 8-14.

4. Hasanova A., Najafaliyeva Sh., Aliyeva P. and Musayev N. *Chara Fragilis* cells – a new object for electrophysiology research // Journ. of Baku Engineering University – Chemistry and Biology, 2017, vol. 1, № 2, pp. 176-182.

5. Hogg J., Williams E.J., Jhonston R.I. A simplified method for measuring membrane resistances *Nitella translucens* // Biochim. et Biophys. Acta, 1968, vol. 150, p. 518.

ОБ УСЛОВИЯХ ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ ПУТЕМ ВНЕШНЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНУЮ СТРУКТУРУ: МОЛЕКУЛУ ДНК И ЕЕ ВОДНОЕ ОКРУЖЕНИЕ **About the Conditions of Information Transmission by External Influence on the Supramolecular Structure: the DNA Molecule and its Water Environment**

Горовой Ю.М.

Ярославский государственный технический университет, г. Ярославль, РФ, gorovoyj@mail.ru

Известно, что молекулы ДНК могут выполнять свои биологические функции только при наличии водного окружения. Нативная ДНК является супрамолекулярной структурой, включающей как собственно молекулу ДНК, так и ее водное окружение. Внешние воздействия: электромагнитное поле, акустическое воздействие, взаимодействие нативной ДНК с другой супрамолекулярной структурой могут менять структуру нативной ДНК. Изменения структуры нативной ДНК в результате таких воздействий можно рассматривать как передачу информации, даже в том случае, когда последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК остается неизменной.

Речь идет не о макроинформации, которая определяется последовательностью нуклеотидов (и определяет первичную структуру ДНК), а о микроинформации, которая связана со статфизическими и термодинамическими параметрами супрамолекулярных систем (и определяет третичную структуру молекулы ДНК). Микроинформационным параметром, который характеризует изменение супрамолекулярной структуры: молекула ДНК и ее водное окружение, является количество взаимной информации [1].

Следует отметить, что наличие пространственной структуры у супрамолекулярной системы означает, что состояние такой системы может быть описано количеством информации согласно алгоритмической трактовке понятия «количество информации», разработанным А.Н. Колмогоровым [2]. Согласно этому подходу величину количества информации можно определить по алгоритму процедуры измерения геометрических параметров супрамолекулярной структуры. Количество взаимной информации А.Н. Колмогоров определил как «количество информации, содержащееся в переменном X относительно переменного Y». Применительно к структурам количество взаимной информации означает меру соответствия структуры X структуре Y или меру взаимного влияния этих структур. Количество взаимной информации равно разности информационных энтропий сложной системы, состоящей из взаимодействующих подсистем, и суммарной энтропии невзаимодействующих подсистем, которые могли бы составить такую сложную систему.

Параметр «количество взаимной информации» используют не только в теории информации, но и практике – в физических характеристиках квантовых компьютеров. В сложных «запутанных» квантовых системах, состоящих из взаимодействующих подсистем, количество взаимной информации характеризует глубину «запутанности» квантовых систем. Количество взаимной информации равно (для квантовых систем) разности энтропий фон Неймана сложной системы и энтропий невзаимодействующих подсистем, которые могли бы составить такую систему. Для квантовых компьютеров очень важно получить устойчивое «запутанное» состояние квантовых систем – состояние, которое характеризует большая и стабильная величина: количества взаимной информации.

Количество взаимной информации супрамолекулярных систем в рассматриваемом случае определяют как разность энтропий нативных ДНК (со своим водным окружением) и смеси нуклеотидов с аналогичным количеством воды. Такая разность энтропий является термодинамической координатой, изменение которой характеризует работу необходимую для перевода сложной системы (в данном случае супрамолекулярной системы) из равновесного в метастабильное (нативное) состояние.

Таким образом, изменение количества взаимной информации супрамолекулярной структуры – нативной ДНК со своим водным окружением – означает изменение третичной структуры ДНК. Соответственно, внешнее воздействие, которое изменяет количество взаимной информации, изменяет третичную структуру молекулы ДНК. Изменение третичной структуры ДНК означает, что молекула ДНК восприняла определенное количество информации. Закономерен вопрос: каких физические параметры служат условием (индикатором) изменения количества взаимной информации и изменения третичной структуры молекулы ДНК.

На основе разработанной автором статистической термодинамики сложных систем получено основное уравнение термодинамики сложных систем [3]. Соотношения для термодинамических коэффициентов, полученные как следствия этого уравнения, позволили связать изменение количества взаимной информации супрамолекулярной структуры нативной ДНК с изменением теплоемкости, диэлектрической и магнитной проницаемости нативной ДНК. Аномалии этих физических параметров, возникшие в результате внешнего воздействия, указывают на изменение количества взаимной информации и, тем самым, на изменение третичной структуры нативной ДНК, следовательно, и на наличие информационного воздействия на нативную ДНК.

1. Горовой Ю.М. О термодинамическом параметре, характеризующем изменение структуры молекулы ДНК в результате взаимодействия со своим водным окружением // VI Съезд биофизиков России, Сборник научных трудов, 2019, т. 1, с. 109-110.

2. Колмогоров А.Н. Три подхода к определению понятия «количество информации» // Проблемы передачи информации, 1966, вып. 1, с. 3-11.

3. Горовой Ю.М. Статистическая термодинамика сложных систем. (Термодинамика информационного взаимодействия) // Научные труды VI Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине», 2012, <http://www.biophys.ru/archive/congress2012/proc-p102-d.pdf>.

ЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ СИСТЕМ АВТОМАТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ. ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА И ОЦЕНКА ТОЧНОСТИ

Logical Model for Automatic Control Systems of Microalgae Growth. Justification of the Choice and Assessment of Accuracy

Гулин А.С.¹, Тренкеншу Р.П.¹, Чернышев Д.Н.²

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, chernishev@gmail.com

Определение концентрации пигментов в культурах микроводорослей, является сложной задачей, как в теоретическом, так и в практическом плане. Количественное определение пигментов является важной задачей в физиологии фотосинтетических организмов, поскольку состав пигмента различается в зависимости от вида, ткани и физиологического состояния. В настоящее время доступные различные методы определения, но они либо ограничены очень немногими пигментами (классические УФ/ВИС спектроскопические методы), либо они отнимают много времени, либо слишком трудоемкие или требуют дорогостоящей приборной базы (например, ВЭЖХ). Как правило, в современных исследованиях используются методы, связанные с выделением пигментов из клеток путем их разрушения с дальнейшим экстрагированием [1]. В подавляющем большинстве случаев оценка концентрации выделенных пигментов определяется спектрофотометрически. Создание современного спектрофотометрического оборудования и автоматизированных систем контроля роста микроводорослей, требуют от нас разработки моделей и алгоритмов для определения концентрации пигментов в культурах.

Объект исследования – спектры поглощения культуры и ацетоновых экстрактов микроводоросли *Spirulina platensis* и *Dunaliella salina*. Культуру *Spirulina (Arthrospira) platensis* North. Geitl, из коллекции культур ФИЦ ИНБИОМ РАН, выращивали в культиваторах на среде «Zagrouk», в накопительном режиме, освещенность поверхности культиватора – 80 Вт/м², температура – 26-28°C. Экстрагирование пигментов из клеток микроводоросли производилось ацетоном (100%) [1]. Спектры поглощения ацетоновых экстрактов и фиксировались на спектрофотометре *Unico 4802*, в диапазоне от 400 до 800 нм, в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см. Спектры нативных культур регистрировались на спектрофотометре *Lambda 35* с интегрирующей сферой.

Спектр ацетонового экстракта хлорофилла *a* *Spirulina platensis*, был описан в области 550-700 нм тремя кривыми Гаусса. Аналогично описан спектр ацетонового экстракта хлорофилла *a* *Dunaliella salina*. Полученные в результате разложения спектров на суммы гауссиан значения амплитуды и положения максимумов пиков, позволяют нам сделать вывод, что содержание хлорофилла *a* в *Spirulina platensis* и *Dunaliella salina*, можно считать равным в пределах допустимой ошибки. Рассмотрены нормированные спектры поглощения культур *Spirulina platensis* и *Dunaliella salina* в области 550-700 нм, а так же определена их разность.

Полученная разность спектров проанализированна с использованием аппроксимации по Гауссу. При сравнении полученных данных, с результатами, представленными в [2], обнаружены совпадения положения максимумов пиков для хлорофилла *a* и хлорофилла *b* по длине волны. Так же близкий результат получен при сравнении отношения максимумов хлорофилла *a* и хлорофилла *b* по амплитуде. Отклонения в результате есть, но они вызваны приборной погрешностью при снятии спектра опытной культуры.

Полученные результаты удовлетворяют требованиям, предъявляемым к проектируемой приборной базе по точности, и позволяет обойтись минимальным количеством гауссиан.

1. Копытов Ю.П. и др. Методика комплексного определения биохимического состава микроводорослей // Альгология, 2015.

2. Küpper H., Spiller M., Küpper F. C. Photometric method for the quantification of chlorophylls and their derivatives in complex mixtures: fitting with Gauss-Peak spectra // Analytical Biochemistry, 2000, vol. 286, № 2, pp. 247-256.

СТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ МЕХАНИЗМА ЗАЩИТЫ БАКТЕРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ПО ДАННЫМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ И КРИО-ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Structural Aspects of the Protection Mechanism of the Bacterial Genome According to Small-Angle X-Ray Scattering Data and Cryo-Electron Microscopy

Дадина Л.А., Можаяев А.А., Камышинский Р.А., Чесноков Ю.М., Орлов И.А., Сошинская Е.Ю., Петухов М.В., Орехов А.С., Васильев А.Л., Штыкова Э.В.

Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» РАН, г. Москва, РФ, lubovmsu@mail.ru

В ответ на стресс бактерии образуют высокоупорядоченные, энергонезависимые внутриклеточные кристаллы, защищающие ДНК от повреждений. Общая стратегия защиты, выявленная впервые в *Escherichia coli*, заключается в совместной кристаллизации ее ДНК с белком Dps, сверхэкспрессия которого происходит в стрессовых условиях. Несмотря на многочисленные исследования этого механизма молекулярные, биохимические и структурные аспекты стратегии защиты бактерий от неблагоприятных условий до сих пор недостаточно изучены.

Проведенный нами комплексный анализ структуры Dps-ДНК со-кристаллов показал, что при определенных условиях со-кристаллы Dps-ДНК могут образовывать триклинную [1] и кубическую структуры [2]. При этом ориентация ДНК внутри со-кристаллов различна. С помощью малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) и криоэлектронной томографии (крио-ЭТ) нами впервые были определены параметры решеток кристаллических комплексов Dps – ДНК. Методом крио-ЭТ с разрешением порядка 13.5 Å впервые определено взаимное расположение молекул Dps и ДНК в комплексе. Параметры триклинной и кубической решеток были уточнены с помощью теоретических расчетов, исходя из анализа взаимного расположения брэгговских пиков на кривых малоуглового рассеяния и определенных по ним индексов Миллера. Оба набора данных хорошо коррелировали, что позволило нам построить детальные трехмерные модели комплексов с высокой степенью точности. С помощью анализа структуры отдельных частиц по данным крио-ЭМ впервые с разрешением 13 Å визуализировано взаимодействие Dps-ДНК. Определены критически важные условия среды для образования со-кристаллов и влияние бивалентных Fe^{2+} и Mg^{2+} катионов на формирование комплекса Dps-ДНК. Подробно проанализировано действие хелатирующего агента ЭДТА на Dps и его N-концевые фрагменты, которые ответственны за взаимодействие с ДНК.

Комплементарность методов МУРР и крио-ЭМ позволили детально исследовать структурные особенности процессов биокристаллизации Dps-ДНК и определить факторы, которые влияют на этот процесс. Особенно важно, что структурные исследования были проведены в условиях, наиболее приближенных к естественным при отсутствии специальной подготовки препаратов перед исследованиями. Это позволило продвинуться в понимании действия защитного механизма клетки.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 18-74-10071).

1. Dadinova L.A., Chesnokov Yu.M., Kamyshinsky R.A., Orlov I.A., Petoukhov M.V., Mozhaev A.A., Soshinskaya E.Yu., Lazarev V.N., Manuvera V.A., Orekhov A.S., Vasiliev A.L., Shtykova E.V. Protective Dps–DNA co-crystallization in stressed cells: an structural study by small-angle X-ray scattering and cryo-electron tomography // FEBS Letters, 2019, vol. 593, DOI: 10.1002/1873-3468.13439.

2. Kamyshinsky R., Chesnokov Yu., Dadinova L., Mozhaev A., Orlov I., Petoukhov M., Orekhov A., Shtykova E., Vasiliev A. Polymorphic Protective Dps–DNA Co-Crystals by Cryo Electron Tomography and Small Angle X-Ray Scattering // Biomolecules, 2020, vol. 10, № 1, DOI: 10.3390/biom10010039.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАЗЛИЧНЫХ ПРОТОКОЛОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК *ARTHROSPIRA PLATENSIS*

Comparative Analysis of Different Protocols for DNA Extraction from *Arthrospira Platensis*

Дегтяр И.В.¹, Лантушенко А.О.¹, Водясова Е.А.², Челебнева Э.С.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, skuratovskaya95@mail.ru

² ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Цианобактерия *Arthrospira (Spirulina) platensis* Gomont, 1892 является ценным источником биологически активных веществ и модельным объектом биотехнологических и генетических исследований [1]. В молекулярно-биологических экспериментах процедура выделения ДНК является методом фундаментального и прикладного характера. На современном этапе уровень молекулярно-генетических подходов даёт возможность анализировать большое количество организмов с целью обнаружения генетической изменчивости, дифференциальной

экспрессии генов, устойчивости к стрессовым факторам внешней среды и др. Исходя из цели работы и в зависимости от объекта исследования, используются различные методики выделения ДНК [2]. Существует множество стандартных протоколов для выделения ДНК из разных объектов исследования, в частности, тканей растений [3], насекомых [4] и т.д.

Целью данной работы являлся сравнительный анализ четырех различных протоколов выделения ДНК из *A. platensis* и подбор оптимальных условий для проведения процедуры. Концентрация ДНК измерялась на спектрофотометре NanoPhotometer N60 (Implen, Германия). В качестве референса (контроля) использовались элюирующие растворы каждого протокола.

Следует отметить, что наличие примесей может приводить к завышению концентраций, тем не менее можно судить о тенденциях (табл. 1).

Таблица 1. Показатели качества ДНК, выделенной из *A. platensis* с помощью различных протоколов

№ образца	Соотношение коэффициентов поглощения A_{260}/A_{280}	Соотношение коэффициентов поглощения A_{260}/A_{230}	Концентрация, нг/мкл (спектрофотометр)
Метод на основе протокола с использованием щёлочи и кислоты (универсальный)			
1 sample	1,986	0,344	65,75
2 sample	1,976	0,320	73,70
3 sample	1,964	0,371	68,55
Метод на основе протокола Analytik jena (для животных)			
1 sample	2,154	0,085	44,8
2 sample	2,182	0,564	57,6
3 sample	2,909	0,028	19,2
Метод на основе протокола набора «ДНК-Экстрен» (для растений)			
1 sample	2,136	0,910	7,05
2 sample	2,069	0,764	6,00
3 sample	2,095	0,557	4,40
Метод на основе протокола на колонках «К-СОРБ» (для тканей и культур клеток)			
1 sample	2,160	2,798	37,40
2 sample	2,182	3,283	30,05
3 sample	2,169	2,977	31,15

Во всех протоколах, кроме «К-СОРБ», присутствуют примеси. Однако, полученное количество ДНК позволяет проводить ПЦР-реакцию и дополнительную очистку. Применение протокола «К-СОРБ» дает наиболее чистый раствор ДНК и высокий выход. Вероятно, это связано с особенностями этапа лизирования, который был разработан в том числе для культур клеток. Таким образом, были выявлены отличия между различными протоколами и показана обоснованность подбора протокола для выделения ДНК для секвенирования, предъявляющего высокие требования к чистоте выделенной ДНК. В тоже время, другие протоколы также позволяют выделить ДНК, пригодную для большинства молекулярно-генетических работ.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ ИнБЮМ (№АААА-А18-118021350003-6) и ФГБОУ ВО «Севастопольский государственный университет» г. Севастополя.

1. Ciferri O. Spirulina, the edible microorganism // Microbiol. Rev., 1983, vol. 47, pp. 551-558.
2. Harwood A.J. Basic DNA and RNA Protocols, Methods in Molecular Biology. New Jersey: Humana Press Totowa, 1994, vol. 58, pp. 3-7.
3. Lutz K., Wenqin W., Zdepski A., Michael T. Isolation and analysis of high-quality nuclear DNA with reduced organellar DNA for plant genome sequencing and resequencing // BMC Biotechnol., 2011, vol 11, p. 54.
4. Hong Chen, Murugesan Rangasamy, Sek Yee Tan, Haichuan Wang, Siegfried B.D. Evaluation of Five Methods for Total DNA Extraction from Western Corn Rootworm Beetles // PLoS One, 2010, vol. 5 (8).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ РАСЧЕТА ХИМИЧЕСКИХ СДВИГОВ ПРОТОНОВ ДЕЗОКСИОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

Using Predictive Models for Calculation Chemical Shifts of Protons of Deoxyoligonucleotides

Завьялова О.С., Дворникова А.Ф., Слепушкина Е.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, zavyalova.os@mail.ru

Известно, что химический сдвиг содержит множество структурных сведений о ДНК. В настоящее время, существуют различные теоретические методы расчета значений химических сдвигов, как для одноцепочечных

нуклеотидных последовательностей, так и для двойных спиральных форм. Эти методы основаны на использовании эталонных значений химических сдвигов и поправочных коэффициентов, полученных из экспериментальных измерений, статистического анализа или полуэмпирических расчетов. Величины поправок определяются вкладом от «ближайших соседей» в нуклеотидной цепи и могут быть рассчитаны по различным методикам.

Целью настоящей работы являлось проведение сравнительного анализа значений химических сдвигов необменивающихся протонов гексамеров 5'-d(CGTACG), 5'-d(CGCGCG), 5'-d(TACGTA), рассчитанных по двум теоретическим моделям [1-3], с соответствующими экспериментальными значениями резонансных сигналов [3]. Все значения химических сдвигов приведены в одинаковых экспериментальных условиях. Рассмотренные дезоксирибонуклеотиды образуют в растворе самокомплементарные дуплексы, термическая стабильность которых определяется нуклеотидным составом и числом пиримидин-пуриновых участков в последовательности.

В модели 1, предложенной в работе Altona C. [1] расчет значений протонного химического сдвига основан на модели тримера. Методика предусматривает разбиение нуклеотидных последовательностей на триплеты с последующим анализом химических сдвигов ароматических протонов и протонов дезоксирибозы центрального нуклеотида в триплете. При этом вводится поправка на местоположение триплета (5'- или 3'-конец цепи), а также учитывается влияние «ближайшего соседа» на соответствующие химические сдвиги.

Химический сдвиг δ_{iI} –го протона, принадлежащего центральному нуклеотиду N_x в триплетах вида $N_5N_xN_3$, $X_5N_xN_3$ и $N_5N_xX_3$, моделируется как сумма:

$$\delta_i = N_{xi} + N_{5i} + N_{3i}$$

$$\delta_i = N_{xi} + X_{5i} + N_{3i}$$

$$\delta_i = N_{xi} + N_{5i} + X_{3i}$$

где N_{xi} – эталонное значение, N_{5i} и N_{3i} представляют собой поправки на добавочное экранирование/дезэкранирование фланкирующих оснований, соответствующих 5'- и 3'-концу нуклеотидной цепи. Значения поправок X_{5i} и X_{3i} указывают на отсутствие фосфатной группы в соответствующем фланкирующем нуклеотиде.

В модели 2 реализуется метод Wijmenga S. [2,3], согласно которому химический сдвиг протона конкретного нуклеотида прогнозируется на основе эталонного значения химического сдвига (δ_{ref}) и вкладов, вызванных его собственным основанием (δ_{ib}) и фланкирующими 3'- ($\delta_{3'ib}$) и 5'- основаниями ($\delta_{5'ib}$):

$$\delta_{ref} = \delta_{ib} + \delta_{3'ib} + \delta_{5'ib}.$$

Таблица 1. Значения химических сдвигов, рассчитанные по прогностическим моделям

Нуклеотид	Химический сдвиг (м.д.)											
	Н6/Н8		Н1'		Н2'		Н2''		Н3'		Н4'	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
C1	7,62	7,70	5,77	5,53	1,92	2,08	2,40	2,57	4,68	4,72	4,05	4,17
G2	7,98	7,90	6,02	5,95	2,72	2,58	2,85	2,67	4,97	4,92	4,37	4,27
T3	7,22	7,15	5,66	5,65	2,09	2,08	2,44	2,47	4,87	4,72	4,20	4,17
A4	8,28	8,30	6,18	6,14	2,70	2,58	2,86	2,77	5,02	4,92	4,41	4,27
C5	7,17	7,25	5,61	5,53	1,84	2,08	2,28	2,57	4,77	4,72	4,11	4,17

В таблице 1, в качестве примера, приведены значения химических сдвигов, рассчитанные по двум моделям для гексамера 5'-d(CGTACG) (номера моделей обозначены цифрами 1 и 2). Число знаков после запятой соответствует значениям, приведенным в [1,2]. Сравнение результатов расчетов, полученных первым методом, с экспериментальными значениями химических сдвигов показало, что точность этого метода составляет 0,01-0,03 м.д. В случае использования второй модели, точность прогнозирования значений химического сдвига протонов составляет, в среднем, 0,08-0,15 м.д., что дает несколько худший результат.

Проанализировав полученные результаты можно сделать вывод о том, что эмпирические модели, разработанные для прогнозирования химических сдвигов, могут дать полезную информацию для изучения взаимосвязи структурных особенностей молекул с их химическим сдвигом, мониторинга связывания ДНК с лекарственными препаратами и исследования конформационных деталей специфических особенностей в структурах ДНК.

1. Altona C., Faber D.H., WestraHoekzema A.J.A. Double-helical DNA ^1H chemical shifts: an accurate and balanced predictive empirical scheme // *Magn. Reson. Chem.*, 2000, vol. 38, pp. 95-107.
2. Lam S.L. DSHIFT: a web server for predicting DNA chemical shifts // *Nucleic Acids Res.*, 2007, № 35, pp. 713-717.
3. Lam S.L., Cui X., Ho C.N. Random coil proton chemical shifts of deoxyribonucleic acids // *J. Biomol. NMR*, 2002, № 24 (4), pp. 329-337.
4. Веселков А.Н., Пахомов В.И., Итон Р., Дэвис Д. ЯМР-исследование самоассоциации молекул дезоксигептануклеотида 5'-d(GCGAAGC) в водном растворе // *Биофизика*, 2000, т. 45, с. 20-26.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ФРАГМЕНТЫ БЕЛКОВЫХ СТРУКТУР ГЛОБАЛЬНОГО ПРОТЕОМА

Biologically Active Fragments of Protein Structures of Global Proteome

Замятнин А.А., Белозерская Т.А.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ,
aaz@inbi.ras.ru

В основе гигантского биоразнообразия лежит не менее гигантское молекулярное разнообразие линейных комбинаций 20 аминокислотных остатков в пептидных структурах (обычно называемыми белками), основанное, в свою очередь, на разнообразии линейных комбинаций 4 нуклеотидов в нуклеиновых кислотах. Уже расшифрованы аминокислотные последовательности ~200 миллионов природных пептидных структур (архей, бактерий, животных, растений и грибов), являющихся частью глобального протеома Земли. Показано, что пептидные структуры глобального протеома содержат до 36 000 аминокислотных остатков [1]. Полагается, что каждая из них предназначена для выполнения определенной роли в живом организме. Несмотря на столь значительное число известных пептидных структур, большая часть глобального протеома еще не расшифрована. Однако известная информация уже используется для различных анализов и обобщений.

Огромная часть подобных анализов посвящена изучению фрагментов представителей глобального протеома, т.е. элементам глобального пептидома. Исследования в этой области также еще далеки от завершения, поскольку теоретически возможное число разных пептидных структур, составленных всего лишь из 50 аминокислотных остатков, характеризуется величиной $\sim 10^{34}$. Правда, в реальности это число меньше: из-за ограниченных размеров геномов в природе реализуются не все комбинации как нуклеотидов, так и аминокислот. Так, в пептидных структурах встречаются все дипептидные (400) и трипептидные (8000) комбинации, а среди тетрапептидных (160000) уже одна (CQWW) не выявлена. Дальнейшее увеличение длины пептида приводит к быстрому падению числа реализованных комбинаций и у октапептидов они составляет всего доли процента. Тем не менее, реализованных комбинаций все равно очень много.

В процессе многочисленных исследований стало ясно, что для живого организма функционально значимыми являются не только целые молекулы белков, но и их природные фрагменты. В результате возникло понятие фрагментомики – направление, в котором изучается структура и функции совокупности фрагментов полипептидов [2]. Такие фрагменты выступают в роли многочисленных и разнообразных регуляторов биологических функций. Данные о структуре и функциях этих природных фрагментов-регуляторов (олигопептидов, содержащих от 2 до 50 аминокислотных остатков) уже в течение 30 лет собираются и изучаются нами в базе данных EROP-Moscow (Endogenous Regulatory OligoPeptides, <http://erop.inbi.ras.ru/>) и их число составляет более 26 000 [3,4]. Среди них большое количество регуляторов нервной (нейропептиды), эндокринной (пептидные гормоны) и иммунной (иммуномодуляторы) систем, а также разнообразные антимикробные олигопептиды, ингибиторы ферментов и многие другие регуляторные пептидные структуры.

Анализ информации базы данных EROP-Moscow позволил сделать вывод о том, что регуляторные олигопептиды возникают из трех источников. Один из них – олигопептидные регуляторы, высвобождаемые из эндогенных специализированных предшественников с помощью особых ферментов. Вторым источником являются обычные эндогенные белки-полипептиды (например, гемоглобин, альбумин и т.д.), расщепляемые протеолитическими ферментами до небольших фрагментов. И, наконец, третьим источником служат экзогенные белки или олигопептиды, поступающие в организм извне в результате приема пищи или укуса (например, насекомых). Образование фрагментов осуществляется в результате действия многочисленных специфичных и неспецифичных ферментов (тоже пептидных структур), способных разрывать любую из 400 возможных пептидных связей. Далее эти фрагменты могут участвовать в различных процессах регуляции.

Таким образом, в результате осуществления собственных процессов метаболизма и внешнего воздействия в организме формируется постоянно меняющийся пул эндогенных и экзогенных веществ пептидной природы – регуляторных олигопептидных молекул (континуум [5]), включенный в работу всех регуляторных систем. Существенным в этом процессе является то, что фрагменты могут обладать иными функциями по сравнению с молекулами, из которых они образовались.

1. Замятнин А.А., Белозерская Т.А. Размер природных линейных пептидных структур // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2019, т. 4, № 3, стр. 315-321.
2. Замятнин А.А. Fragmentomics of natural peptide structures // Biochemistry (Moscow), 2009, vol. 74, № 3, pp. 1575-1585. DOI: 10.1134/s0006297909130100.
3. Замятнин А.А. Специализированный банк данных EROP-Moscow о свойствах природных регуляторных олигопептидов // Нейрохимия, 1990, т. 9, № 1, стр. 71-82.
4. Zamyatnin A.A., Borchikov A.S., Vladimirov M.G., Voronina O.L. The EROP-Moscow oligopeptide database // Nucleic Acids Research, 2006, vol. 34, Database Issue, pp. D261-D266, DOI: 10.1093/nar/gkj008.
5. Ашмарин И.П., Обухова М.Ф. Регуляторные олигопептиды. Функционально-непрерывная совокупность // Биохимия, 1986, т. 51, № 4, с. 531-544.

БИОФИЗИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ КЛЕТОК ОРГАНИЗМА

The Biophysical Approach to Study of Organism's Cell Unspecific Reactivity

Иванов К.Ю., Паточка Г.Л., Нагиба В.И., Варганова И.А., Никанорова Е.А.

ФГУП «Российский Федеральный ядерный центр – Всероссийский НИИ экспериментальной физики»,
г. Саров, РФ, gane@orb2.vniief.ru

На большом статистическом материале наглядно продемонстрировано, что оценка исходного состояния и выраженность реакции на тестирующее воздействие являются основными подходами к прогнозированию неспецифической реактивности организма [1]. Плотность упаковки ДНК в хроматин во многом определяет устойчивость клеток организма к действию различных факторов. От конформационного состояния хроматина зависит подверженность генетического аппарата клетки повреждения [2]. При этом активация процессов, направленных на формирование клеточной резистентности, неизбежно требует вмешательства в структуру хроматина [3]. Исследование конформационного состояния клеточного хроматина, а также его реактивности на гипертермию (тепловой шок), можно проводить с помощью биофизического метода аномальной временной зависимости вязкости (АВЗВ) [4]. Метод основан на исследовании радиальной миграции ДНК-белковых комплексов в куэтовском течении ротационного вискозиметра при высоких напряжениях сдвига. Цель работы - анализ прогностической значимости показателей метода АВЗВ при исследовании индивидуальных особенностей клеточных реакций при действии физических факторов: ионизирующей радиации и слабого магнитного поля.

Исследование было проведено *in vitro* на клетках крови человека ($n=17$) и белых беспородных крыс-самцов ($n=39$). Образцы донорской крови подвергали действию гамма-излучения ^{60}Co в дозе 3,0 Гр с мощностью дозы 1,0 Гр/мин. Образцы крови интактных животных подвергали действию низкочастотного биполярного импульсного магнитного поля с максимальной магнитной индукцией 11,8 мТл в течение 30 минут. Конформационное состояние хроматина исследовали с помощью метода АВЗВ. Для оценки исходной реактивности хроматина по реакции на тепловой шок образцы донорской крови и крови животных выдерживали при 46°C в течение 30 минут.

Установлено, что облучение в дозе 3,0 Гр приводило к деконденсации хроматина клеток крови человека. Изменение конформационного состояния хроматина в группе доноров в целом относительно конформационного состояния до облучения носило значимый характер ($p \leq 0,001$). Корреляционный анализ результатов показал, что степень радиационно-индуцированной деконденсации хроматина зависит от его исходного конформационного состояния ($r = -0,86$; $p \leq 0,001$) и реактивности на тепловой шок ($r = 0,82$; $p \leq 0,001$). Выявленные закономерности свидетельствуют о том, что максимальная деконденсация хроматина в ответ на лучевое воздействие происходит в клетках с его наиболее конденсированным состоянием и в клетках с высокой исходной реактивностью хроматина на тепловой шок.

Неспецифическая реакция клеток крови животных на действие магнитного поля проявлялась в слабой деконденсации хроматина и незначительном снижении его последующей реактивности на тепловой шок. Биологическая эффективность магнитного поля была наиболее выражена при отклонении исходных значений показателя конформационного состояния или реактивности хроматина от средних значений для группы в целом. При этом изменение показателей метода АВЗВ после воздействия происходило по направлению к средним значениям для группы в целом.

Таким образом, метод аномальной временной зависимости вязкости, позволяющий на клеточном уровне исследовать конформационное состояние хроматина и оценивать его реактивность, может быть использован для прогнозирования неспецифической реакции организма.

1. Ушаков И.Б., Штемберг А.С., Шафиркин А.В. Реактивность и резистентность организма млекопитающих. М.: Наука, 2007, 493 с.
2. Кудряшов Ю.Б. Основные принципы в радиобиологии // Радиационная биология. Радиоэкология, 2001, т. 41, вып. 5, с. 537-547.
3. Разин С.В., Быстрицкий А.А. Хроматин: упакованный геном. М.: Бином, 2009, 176 с.

4. Иванов К.Ю., Паточка Г.Л., Никанорова Е.А., Нагиба В.И. Индивидуальные особенности изменения конформации хроматина при действии различных физических факторов // Молекулярная медицина, 2019, т. 17, № 5, с. 35-41, DOI: 10.29296/24999490-2019-05-05.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МАКСИМАЛЬНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ *PORPHYRIDIDIUM PURPUREUM* И *ARTHROSPIRA PLATENSIS*

Comparative Assessment of the Maximum Productivity *Porphyridium Purpureum* and *Arthrospira Platensis* Batch Culture

Клочкова В.С.¹, Гаджи А.В.¹, Лелеков А.С.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, viki-iki@mail.ru

² ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ, a.lelekov@yandex.ru

Благодаря простоте технической реализации большинство экспериментальных работ с культурами микроводорослей проводятся в накопительном режиме. В условиях накопительного культивирования исследователи отмечают наличие линейной фазы, характеризующейся постоянством продуктивности. Этот участок имеет относительно большую протяженность во времени, а плотность культуры иногда увеличивается в десятки раз. Механизм явления линейного роста неизвестен, в некоторых работах его связывают с газовым обеспечением [1], либо световыми условиями [2]. Независимо от механизма, обеспечивающего линейный рост, параметр продуктивности культуры микроводорослей можно рассматривать как обобщенную характеристику её физиологического состояния, так как он включает в себя всю совокупность биосинтетических и биоконверсионных процессов в клетках.

Целью данной работы являлось установление зависимости максимальной продуктивности накопительных культур *P. purpureum* и *A. platensis* от внешней освещённости.

Работа выполнялась на базе кафедры «Физика» СевГУ, а также в отделе биотехнологий и фиторесурсов ФИЦ ИнБЮМ им. А.О. Ковалевского РАН г. Севастополь. Объектом исследования являлась культура красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* и цианобактерии *Arthrospira (Spirulina) platensis*. Выращивание осуществляли в плоскопараллельном фотобиореакторе [3] толщиной 2 см, площадью освещаемой поверхности 0,05 м² при круглосуточном искусственном освещении люминесцентными лампами Philips. За время эксперимента температура оставалась постоянной в пределах 26-28 °С. Среднюю освещённость поверхности фотобиореактора определяли люксметром Ю-116 по шести точкам. Отбор проб для определения оптической плотности проводили из разных точек внутри культиватора: отбирали по 0,5 мл суспензии клеток водорослей, получая таким образом «среднюю пробу» объёмом 5 мл. В средней пробе после перемешивания определяли оптическую плотность D_{750} на фотометре Unicо 2100 в кюветах 5 мм при длине волны 750 нм. Для определения сухого веса (СВ) величину оптической плотности D_{750} умножали на эмпирический коэффициент $k = 1,4 \text{ г} \cdot \text{СВ} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ед. опт. пл}^{-1}$ для *P. purpureum* и $k = 0,8 \text{ г} \cdot \text{СВ} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ед. опт. пл}^{-1}$ для *A. platensis*. Все расчёты проводили в программах Excel и Scidavis.

Полученные результаты представлены в в таблице 1, где P_m – максимальная продуктивность, определённая аппроксимацией линейного участка накопительной кривой.

Таблица 1. Зависимость максимальной продуктивности (P_m) накопительных культур *P. purpureum* и *A. platensis* от внешней освещённости (I_0)

	<i>P. purpureum</i>			<i>A. platensis</i>						
I_0 , клк	5,0	10,0	15,0	1,8	3,2	4,6	6,0	6,5	7,4	8,3
P_m , г/(м ² ·сут)	9,0	11,0	12,4	1,0	1,8	2,8	4,2	4,6	5,0	5,6

Полученные результаты свидетельствуют, что вне зависимости от вида микроводоросли и количества световой энергии на линейном участке накопительной кривой наблюдается линейная взаимосвязь максимальной продуктивности с освещённостью. В общем случае, линейный участок является результирующей относительно большого количества воздействующих факторов, которые приводят к постоянству скорости роста. Например, это изменяющаяся эффективность усвоения световой энергии, изменение скорости синтеза тех или иных биохимических составляющих клеток и пр. Тем не менее, полученные результаты могут быть использованы при разработке теоретических основ линейного роста культур микроводорослей.

1. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. Моделирование роста микроводорослей. Белгород: ООО «КОНСТАНТА», 2017, 152 с.

2. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Новикова Т.М. Линейный рост морских микроводорослей в культуре // Морской биологический журнал, 2018, т. 3, № 1, с. 53-60.

3. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б., Новикова Т.М. Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей // Вопросы современной альгологии, 2017, № 1 (13), URL: <http://algology.ru/1097>.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ γ – ИЗЛУЧЕНИЯ

Structural and Functional State of the Plasma Membranes of Yeast Cells Under the Action of γ - Radiation

Кочарли Н.К., Гумматова С.Т.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, sam_bio@mail.ru

Биологические мембраны первыми реагируют на неблагоприятное воздействие факторов окружающей среды и во многих случаях подобные изменения лежат в основе нарушения жизнедеятельности клеток. Поэтому, изучение механизма нарушений структуры и функции мембран при действии факторов – одна из важнейших задач биологии. Для изучения структурно-функционального состояния клеточных мембран используется метод флуоресцентных зондов. Флуоресценция зондов отражает те изменения в мембране и клетке, которые происходят под действием факторов, и с помощью различных зондов можно охарактеризовать их действие на мембрану. Настоящая работа посвящена изучению влияния гамма лучей на клетки дрожжей путем регистрации изменений параметров флуоресценции пирена в мембранах.

Облучение клеток дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМУ-916 осуществляли γ -квантами на установке ^{60}Co . Доза облучения составляла 5 Гр-150 Гр.

γ - облучение клеток дрожжей в дозе 5-50 Гр судя по коэффициенту эксимеризации, приводила к увеличению микровязкости (уменьшению текучести) общего липидного бислоя мембран. Аналогичные процессы отмечались также в областях аннулярных (при белковых) липидов. После облучения в дозе 50-150 Гр наблюдалось значительное изменение параметров, характеризующих физическое состояние липидного бислоя и аннулярных липидов мембран клеток дрожжей. Данные, полученные при использовании флуоресцентного зонда пирена, свидетельствует об изменении исследуемых параметров структурного состояния клеточных мембран. Полярность окружения зонда пирена в липидном слое мембран $F_{272}/F_{393}(334)$ увеличивается при облучение клеток дозой 5-50 Гр.

При оценке полярности общего мембранного липидного бислоя установлено, что при облучении в дозе 75-150 Гр наблюдалось незначительное увеличение полярности липидного компонента мембран клеток.

Полярность окружения зонда пирена в области аннулярных липидов $F_{272}/F_{393}(282)$ не имеет существенных отличий от контроля при дозах облучения клеток от 5 до 50 Гр. Динамика полярности микроокружения пирена в мембранах клеток дрожжей имеет лишь тенденцию к снижению в участках аннулярных липидов после облучения дозой 75-150 Гр.

Установлена зависимость количества МДА образованного в клетках дрожжей от дозы γ - облучения. Показано что с ростом дозы γ - облучения (5-150 Гр) в мембранах клеток происходит увеличение концентрации МДА, что свидетельствует о развитии процесса ПОЛ. Концентрация МДА была наибольшей при облучении клеток, в дозе 75 Гр которая превышала контрольные значения в 2 раза. Полученные нами данные, свидетельствуют о радиозащитном действии масла зародышей пшеницы при облучении клеток дрожжей. Совокупность полученных данных позволяет предположить, что процессы адаптации при большой дозе облучения клеток дрожжей, очевидно, завершаются в более ранние сроки.

ДИНАМИКА КОНВЕРСИИ СВЕТА ЛИСТЬЯМИ РАСТЕНИЙ В ЭЛЕКТРИЧЕСКИЙ ТОК В ПРИКОРНЕВОЙ ЗОНЕ

Dynamics of Light Conversion by Plants Leaves in Electricity in a Root Zone

Кулешова Т.Э.^{1,2}, Желнина А.И.¹, Удалова О.Р.², Панова Г.Г.², Галль Н.Р.¹

¹ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, г. Санкт-Петербург, РФ, www.piter.ru@bk.ru

² Агрофизический научно-исследовательский институт, г. Санкт-Петербург, РФ

Известно, что растительные организмы обладают способностью к электрогенезу. Процессы возникновения биоэлектрических потенциалов связываются с наличием в клетках избирательно проницаемых для ионов мембранных структур [1]. Метаболические реакции, протекающие в ходе поглощения корневой системой питательных элементов – транспорта ионов, также способствуют созданию электрического градиента потенциалов в корнеобитаемой среде. В ходе фотосинтеза, то есть поглощения энергии света, растения могут выделять в ризосферу более 20 % ассимилированного углерода, экссудаты включают в себя сахара, аминокислоты, органические кислоты, нуклеотиды, флаваноны, фенольные соединения и ферменты [2]. В свою

очередь выделяемые ризодепозиты влияют на pH почвы, транспорт воды, доступность кислорода, и могут использоваться в жизнедеятельности микроорганизмов [2].

Таким образом, цель настоящей работы заключалась в исследовании корреляции светопоглощательной способности листьев растений и генерируемых в прикорневой зоне биоэлектрических потенциалов.

В качестве тестируемых объектов были выбраны модельное растение – хлорофитум хохлатый (*Chlorophytum comosum* (Thunb.) Jacques) и сельскохозяйственная культура – салат (*Lactuca* L.) сорта Азарт. Листья хлорофитума и салата являются удобным объектом для изучения светопоглощательных свойств, так как имеет большую поверхность, кроме того поглощенная салатом энергия света напрямую связана с продуктивностью растительной культуры. Также, оба объекта достаточно быстро растут и имеют развитую, густую корневую систему, что позволяет изучать стабильно генерируемые в прикорневой зоне биоэлектрические потенциалы уже на ранних стадиях развития. Контроль параметров окружающей среды – температуры, влажности, освещенности осуществлялась автоматически с помощью системы датчиков и микроконтроллера. Биоэлектрические потенциалы прикорневой зоны регистрировались каждые 15 минут с помощью разработанного нами неинвазивного метода [3]. Поглощение света А листьями *in vivo* рассчитывалась по формуле $A=(k \cdot I - I_T)/I$, где k – коэффициент, учитывающие отражение от листа, принимаемый за постоянную величину, I – интенсивность светового потока, приходящего на лист, I_T – интенсивность прошедшего сквозь лист света, автоматически регистрируемая каждые 15 минут с помощью фотодиода.

С помощью созданного многофункционального метода фитомониторинга получено, что на 15-33 дни развития исследуемых растений значения БЭП варьируют в пределах 40-120 мВ для хлорофитума, 50-250 мВ для салата, а величины коэффициентов поглощения меняются от 0,3 до 0,4 для хлорофитума и от 0,5 до 0,6 для салата. На рисунке представлено сравнение пропускания света листовой пластиной растения салата и значений БЭП в прикорневой зоне. При развитии растения, листовая пластина делается более оптически плотной, при этом проходящий световой поток постепенно уменьшается в 3 раза, в то время как БЭП увеличивается в 2,5 раза, что видим на 30-32 день эксперимента, соответствующей технической спелости зеленой массы.

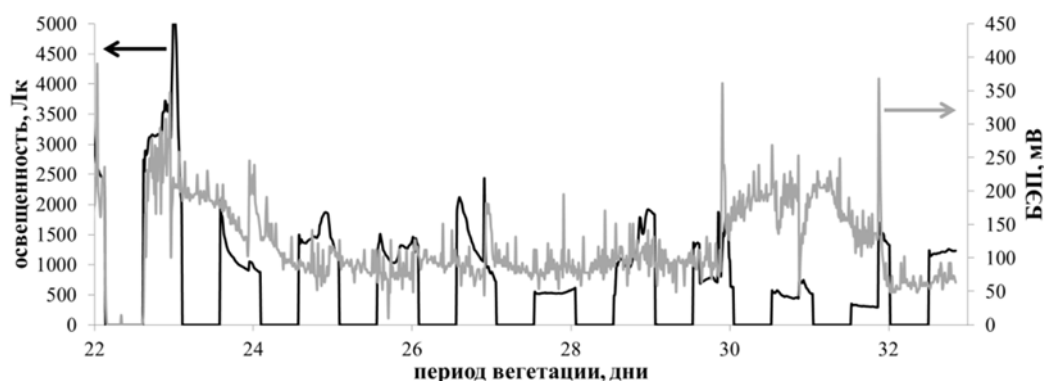


Рисунок 1. Динамики пропускания света листовой поверхностью салата и биоэлектрических потенциалов в прикорневой зоне

Полученные зависимости позволяют сделать вывод о корреляции процессов поглощения энергии света листьями и генерации биоэлектрических потенциалов в ризосфере. Данный эффект может быть использован для повышения эффективности растительно-микробного топливного элемента за счет увеличения светопоглощательных свойств листьев.

1. Опритов В.А., Пятыгин С.С., Ретивин В.Г. Биоэлектрогенез у высших растений. М.: Наука, 1991, 216 с.
2. Tou I., Azri Y.M., Sadi M., Lounici H., Kebbouche-Gana S. Chlorophytum microbial fuel cell characterization. International // Journal of Green Energy, 2019, vol. 16, № 12, DOI: 10.1080/15435075.2019.1650049.
3. Кулешова Т.Э., Бушлякова А.В., Галль Н.Р. Неинвазивное измерение биоэлектрических потенциалов растений // Письма в ЖТФ, 2019, vol. 45, № 5, DOI: 10.21883/PJTF.2019.05.47387.17541.

**ВЛИЯНИЕ pH И ИОННОЙ СИЛЫ НА БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
ФИБРИНОГЕНА ПО ДАННЫМ ТРАНСЛЯЦИОННОЙ ДИФФУЗИИ**
**Effect of pH and Ionic Strength on Protein-Protein Interactions of fibrinogen According to Translational
Diffusion Data**

Кусова А.М., Ситницкий А.Э., Зуев Ю.Ф.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Межмолекулярные белковые взаимодействия играют важную роль в термодинамических свойствах и фазовом поведении белковых растворов. В настоящей работе мы сосредоточили основное внимание на белок-белковых взаимодействиях в растворах фибриногена (Fg), которые играют фундаментальную роль в процессах свертывания, тромбоцитоза и заживления ран. Несмотря на то, что взаимодействия Fg с другими белками и рецепторами плазмы важны при гемостазе, тромбозе и других процессах, мы уделяем особое внимание взаимодействиям Fg-Fg из-за высокой естественной концентрации Fg в плазме (2-4 г/л.) и их возможным влиянии на образование протофибрилл.

Недавно нами был предложен комплексный подход к изучению диффузионной подвижности и межмолекулярных взаимодействий сфероидальных белковых молекул в широком диапазоне концентраций [1]. В настоящей работе само- и коллективная диффузия палочкообразного Fg изучались с использованием методов ядерного магнитного резонанса с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП) и динамического рассеяния света (ДРС). Сочетание экспериментальных подходов описывает различные диффузионные эффекты и позволяет получить информацию о межмолекулярных взаимодействиях. Теоретическое описание экспериментальных данных основывается с одной стороны, на формализме трения неравновесной термодинамики, а с другой, на анализе потенциалов электростатических взаимодействий. Данный многоступенчатый подход в исследовании межбелковых взаимодействий получил дальнейшее развитие для характеристики и оценки влияния окружения (pH и ионной силы) на неспецифические межмолекулярные взаимодействия палочкообразного Fg.

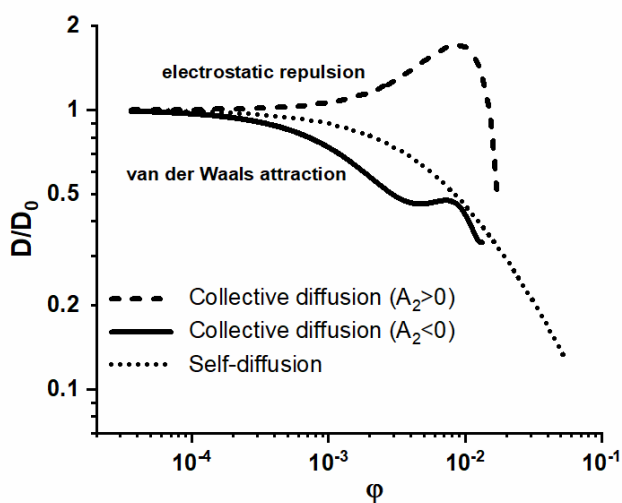


Рисунок 1. Концентрационные зависимости коэффициентов само- и коллективной диффузии Fg в зависимости от объемной доли белка

На рисунке 1 точками показана концентрационная зависимость коэффициента самодиффузии, пунктирной линией обозначен характерный вид концентрационной зависимости коэффициента коллективной диффузии при превалировании электростатического отталкивания между белковыми молекулами, пунктирная линия – вид зависимости, когда основным взаимодействием является Ван-дер-Ваальсовое притяжение. Было выяснено, что варьируя внешние условия, можно контролировать вклады отдельных потенциалов межмолекулярных взаимодействий Fg. Так, в нормальных физиологических условиях молекулы Fg взаимодействуют, в основном по средствам дисперсионных сил, при увеличении заряда белковой молекулы, доминирующими становятся электростатические взаимодействия. Полученные данные характеризуют межмолекулярные взаимодействия Fg-Fg в различных условиях, что является важным вопросом в изучении образования протофибрилл.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований, грант № 20-04-00157.

1. Kusova A.M., Sitnitsky A.E., Faizullin D.A., Zuev Yu.F. Protein Translational Diffusion and Intermolecular Interactions of Globular and Intrinsically Unstructured Proteins // J. Phys. Chem. A, 2019, vol. 123, pp. 10190-10196.

О ПРОБЛЕМЕ ВЛИЯНИЯ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

On the Problem of Low Concentrations on Biological Activity

Лобышев В.И.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, *lobyshev@yandex.ru*

В докладе будет представлен анализ этой проблемы, которая долго неоднозначно принимается научным сообществом и в которую внесли значительный вклад отечественные исследователи. Несомненно, это направление связано с исследованиями в области малых доз ионизирующих излучений и слабых неионизирующих электромагнитных полей, а также с результатами гомеопатической практики в медицине, насчитывающей более 200 лет и не имеющей по настоящее время теоретических обоснований. С конца 1970-х годов на различных биологических моделях разными авторами было показано, что при уменьшении от обычно используемой концентрации действующего вещества, биологический эффект вновь появляется. При этом он может быть более интенсивным или даже другой знак ответа. Таким образом, зависимость биологического ответа на уменьшающуюся концентрацию активного вещества имеет немонотонный характер и может характеризоваться несколькими экстремумами. Исследования физико-химических характеристик концентрационных зависимостей в области малых и сверхмалых концентраций, проведенные в нашей стране и за рубежом, убедительно показывают появление аналогичных закономерностей. Нами впервые была показана высокая корреляция между физическими характеристиками сильно разбавленных растворов и биологическим откликом одноклеточных, что было подтверждено другими исследователями. Установлено, что неклассическое поведение разбавленных водных растворов связано с образованием мезочастиц размером порядка сотни нанометров. Во многих случаях образование мезочастиц не наблюдается при выдерживании образцов водных растворов в условиях ослабленного магнитного поля Земли. Наблюдаемые эффекты выходят за рамки классических представлений о растворах. В докладе формулируются вопросы, требующие экспериментального и теоретического решения.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИДРОГЕЛЕЙ С УГЛЕРОДНЫМИ НАНОТРУБКАМИ В КАЧЕСТВЕ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ НЕФТЕОТДАЧИ

The Use of Hydrogels with Carbon Nanotubes as Reagents for Oil Recovery

Макарова А.О.¹, Зуева О.С.², Зуев Ю.Ф.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ «Казанский научный центр РАН», г. Казань, РФ, *tat355@mail.ru*

² Казанский государственный энергетический университет, г. Казань, РФ

Одной из наиболее актуальных проблем для нефтяной отрасли является высокая обводненность добываемой нефти. Сохранение рентабельности существующего фонда скважин обуславливает необходимость поиска эффективных реагентов для селективной изоляции водопритока в добывающие скважины. Очевидно, что создание эффективных технологий ограничения водопритока напрямую зависит от разработки принципиально новых тампонирующих материалов, в том числе обладающих селективностью в условиях близких проницаемостей нефте- и водонасыщенных зон. К числу таких материалов относятся биополимеры в виде водных растворов, которые закачивают в пласт с помощью системы поддержания пластового давления. Из-за отличительной спиральной структуры (тройной или двойной), жесткости и свободных от заряда цепей биополимеры обычно обладают превосходной устойчивостью к солям и температуре, что дает биополимерам выдающееся загущающую способность и стабильность в резервуарах с жесткими условиями. Широкий спектр возможностей получения биополимеров с различными заданными свойствами делает их перспективными реагентами для нефтегазовой отрасли. Они уже применяются в нефтяной промышленности в качестве загустителей закачиваемой воды при заводнении и регуляторов структурных свойств буровых растворов, значительно превосходя по своим технологическим свойствам синтетические полимеры [1]. Перспективным направлением является использование гидрогелей в форме криогелей, т.е. гелей, предварительно подвергнутых одному или нескольким циклам замораживания и размораживания. Механические и теплофизические свойства полимерных криогелей зависят от их состава, а также от режимов и способов криогенной обработки исходных растворов. Биополимерные криогели, как и биополимерные гидрогели, являются нетоксичными и экологически чистыми материалами, также могут быть использованы при добыче и транспорте нефти [2].

Большинство гидрогелей имеют ограниченные механические свойства. Модификация свойств полимерных гидрогелей может быть достигнута использованием наночастиц, например, углеродных нанотрубок (УНТ) [3]. Известно, что добавление наночастиц приводит к радикальной трансформации свойств многих материалов за

счет изменения их морфологии практически без изменения их химического состава, что лежит в основе нанотехнологий [4].

В данной работе методами малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) были изучены структурные особенности гидрогелей и криогелей, а также их изменения, связанные с добавлением углеродных нанотрубок. Образцы готовили на основе щелочного желатина типа В из бычьей кожи производства и к-каррагинана типа I. В качестве введенных топологических наноструктур использовали многостенные углеродные нанотрубки из углеродного наноматериала «Таунит».

Добавление небольшого количества УНТ привело к изменению морфологии гидрогелей. Методом СЭМ-микроскопии было отмечено, что УНТ соединяются в комплексы размером 10-20 нм. Изменения коснулись и внутренней структуры, сетка гидрогеля стала более четкой и упорядоченной. Согласно данным МУРР, увеличились характеристические размеры ячеек композиционного гидрогеля.

Для контроля происходящих изменений была исследована структура частиц криогеля, полученного на основе несколько более концентрированного состава. Сравнение изображений говорит о том, что размеры ячеек в присутствии УНТ действительно в значительной степени увеличиваются. Соответственно, изменения структурных параметров приведет к изменению свойств композиционных систем.

Таким образом методами сканирующей электронной микроскопии и малоугловым рентгеновским рассеиванием были определены структурные параметры гидрогелей, криогелей и их трансформацию, связанную с присутствием наночастиц.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-38-90085 и Стипендии Президента РФ СП-1165.2019.1. Изучение образцов с помощью электронной микроскопии выполняли в Междисциплинарном центре «Аналитическая микроскопия» Казанского (Приволжского) федерального университета.

1. Li Y., Xu L., Gong H., Ding B., Dong M., Li Y. A Microbial Exopolysaccharide Produced by *Sphingomonas* Species for Enhanced Heavy Oil Recovery at High Temperature and High Salinity // *Energy & Fuels*, 2017, vol. 31, № 4, pp. 3960-3969, DOI: 10.1021/acs.energyfuels.6b02923.

2. Манжай В.Н., Фуфаева М.С. Свойства криогелей и их применение в технологиях добычи и транспорта нефти. Известия высших учебных заведений // Нефть и газ, 2011, № 6, с. 102-107.

3. Lillehei P.T., Kim J.-W., Gibbons L.J., Park C. A Quantitative Assessment of Carbon Nanotube Dispersion in Polymer Matrices // *Nanotechnology*, 2009, vol. 20, № 32, p. 325708, DOI: 10.1088/0957-4484/20/32/325708.

4. Зуева О.С., Губайдуллин А.Т., Макарова А.О., Богданова Л.Р., Захарова Л.Я., Зуев Ю.Ф. Структурные особенности композиционного белок-полисахаридного гидрогеля в присутствии углеродного наноматериала // Известия Академии наук. Серия химическая, 2020, № 3, с. 581-589, DOI: 1066-5285/20/6903-01.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И СТРУКТУРНАЯ ЛАБИЛЬНОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК *NITELLOPSIS OBTUSA* Functional Activity and Structural Lability of Plasma Membrane of *Nitellopsis Obtusa* Cells

Махмудова Ш.С.¹, Мусаев Н.А.²

¹ Институт ботаники НАНА, г. Баку, Азербайджан, *mahmudovashirin656@gmail.com*

² Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, *nagi.musayev@hotmail.com*

Липиды биомембран играют роль стерического регулятора функциональной активности мембранных белков, что установлено в модельных системах, путём реконструкции мембранной структуры. Вопрос такого плана для мембран интактных клеток не решён. Экспериментальные исследования для решения таких вопросов возможно при одновременной и непрерывной регистрации комплекса структурно- функциональных параметров клеточных мембран.

Основными параметрами функциональной активности клеточных мембран являются потенциал ϕ_m и сопротивление единицы площади R_m . А показателем структурно-функционального состояния мембран является электрическая ёмкость единицы площади C_m . Одновременная и непрерывная регистрация этих параметров клеточных мембран стало возможной после разработки метода импедансной спектроскопии с использованием прецизионной микроэлектродной техники. Многочасовое измерение названных параметров стало возможным с применением стеклянных микроэлектродов и крупных клеток харовых водорослей - *Nitellopsis obtusa*, когда интактность исследуемого объекта обеспечивается полностью.

Связь между функциональной активностью и структурной лабильностью плазматической мембраны (ПМ) в данной работе установлена с применением стандартных модификаторов проводимости (сопротивления), ёмкости и электрогенной активности клеточных мембран.

Средние значения названных величин для 100 клеток в стандартных условиях среды составляли $R_m = 3,8 \pm 0,15 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$, $C_m = 0,90,05 \text{ мкФ} \cdot \text{см}^{-2}$ соответственно. Между R_m и ϕ_m установлена линейная зависимость

$R_m=0,032-0,03$ фм с коэффициентом корреляции $r=0,67$. Активность ионов K^+ в цитоплазме клеток, измеренной с помощью K^+ -чувствительных микроэлектродов составляла $a_k^+=104\pm 6$ мМ.

Анализом зависимостей R_m и ϕ_m от наружной концентрации K^+ установлены два типа K^+ -каналов в ПМ клеток *Nitellopsis obtusa*. У клеток с $|\phi_m| > 170$ мВ в проводящем состоянии находятся K^+ - каналы внутреннего выпрямления (ККВВ), а у клеток с $|\phi_m| < 170$ мВ- K^+ - каналы наружного выпрямления (ККНВ). Изменение S_m , при 10 и 100-кратном увеличении содержания K^+ нами не обнаружена. Изменение S_m не выявили также при модуляции белковой фазы ПМ клеток *Nitellopsis obtusa* индукторами проводимости, которые способны удачно внедряться в состав клеточных и искусственных мембран. Такими белками явились валиномицин, грамицидин А, грамицидин С. Отсюда был сделан вывод о том, что вклад белковой фазы биомембран в электрическую ёмкость незначителен и электрическая ёмкость клеточных мембран является, в основном характеристикой её липидной фазы. Действительно, воздействием на мембрану липофильными веществами как дициклогексил-карбодиимид, диметилсульфоксид обнаружили существенное изменение электрической ёмкости ПМ. А изменение S_m в присутствии блокатора K^+ -каналов Co^{2+} сопровождалось усилением электрогенной активности ПМ на постоянном уровне R_m . Отсюда был сделан вывод об активации электрогенной активности ионных помп ПМ за счет изменения фазового состояния их липидного окружения.

Подводя итоги анализов изменения электрофизиологических параметров ПМ клеток *Nitellopsis obtusa* под влиянием катионов Co^{2+} нами установлено, что всякие изменения структурно-поляризационных свойств отражаются в изменениях её электрогенной активности. Катионы Co^{2+} удачно инактивируют ККНВ, не затрагивая при этом ККВВ.

Установленные факты в представленной работе свидетельствуют о том, что изменения структурно-поляризационного состояния ПМ интактных клеток можно контролировать непрерывным измерением электрической ёмкости, что является важным моментом идентификации закономерностей белок-липидного взаимодействия в биомембранах. Скрининг механизмов белок-липидного взаимодействия в биомембранах могло бы стимулировать идентификацию усиления функциональной активности транспортных АТФаз посредством липидной фазы. Совокупность установленных фактов влияния стандартных модификаторов на основные электрофизиологические параметры ПМ свидетельствуют о наличии органической связи между функциональной активностью и фазовым состоянием липидного окружения функциональных групп. Вероятно, это осуществляется по определённой генетической программе, что должно заинтересовать молекулярных биологов.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДИК ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ АНАЛИЗА АГРЕГАЦИИ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ NNC-ТИПА

Analysis of the Aggregation of Platinum-containing NNC-type Complexes by using Various Experimental Methods of NMR Spectroscopy

Мерер Я.В.¹, Лантушенко А.О.¹, Яковлева Ю.А.², Ельцов О.С.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, lantushenko@mail.ru

² Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, РФ

Агрегация и самоассемблирование молекул является широко используемым инструментом в супрамолекулярной химии и молекулярной физике. Исследования самоассоциации являются важными, т.к. свойства агрегатов как правило отличаются от свойств входящих в них одиночных молекул [1]. В данной работе исследованы специально синтезируемые тридентатные платиносодержащие соединения YAK-91 и SAF-23, содержащие хромофор NNC - типа. Рассматриваемые молекулы содержат одинаковый гетероциклический хромофор с атомом хлора, связанным с платиной, и отличаются положением ароматического радикала, содержащего углеводородные цепи разной длины. Экспериментальные данные были получены методами одно- и двумерной ЯМР-спектроскопии по протонам, ядрам платины и коэффициенту диффузии.

Выявлено, что с ростом концентрации химические сдвиги всех исследованных протонов смещаются в область более сильного поля, что свидетельствует об образовании стопочных ассоциатов. Данное суждение подтверждается характером изменения химических сдвигов ядер платины. В данной работе также использовали измерения поступательного коэффициента диффузии D_{obs} при различных концентрациях x_0 , определяемого по измерению скорости спада намагниченности в области химических сдвигов протонов ароматической области в методике диффузионно-упорядоченной ЯМР-спектроскопии. Характер диффузионных кривых также подтверждает образование стопочных ассоциатов.

Анализ данных проводился с помощью бесконечномерной некооперативной модели (НМ-модель) и бесконечномерной кооперативной модель (КМ-модель) [2]. В результате были получены индуцированные химические сдвиги, равновесные константы агрегации и параметр кооперативности.

Относительно большие значения индуцированных химических сдвигов протонов $\Delta\delta$ свидетельствуют о сильном экранировании молекул в ассоциатах и высоком сродстве к агрегации. Как и для изученных ранее

соединений типа SAF, расчетное значение параметра кооперативности лежит в диапазоне от 1 до 2, свидетельствуя об антикооперативном характере агрегации исследованных молекул.

Важно отметить что полученные по НМ модели значения констант самоассоциации YAK-91 и SAF-23 значительно превышают полученные ранее для синтезированных в рамках данного проекта платиносодержащих соединений $K_{YAK-91}(^1H) = 450 \pm 210 M^{-1}$, $K_{SAF-23}(^1H) = 1760 \pm 600 M^{-1}$ [3].

Из проведенных расчетов вытекает примерно двукратное различие K по бесконечномерной модели (по данным 1H) и димерной модели (по данным DOSY) для обоих исследованных соединений. Это вполне ожидаемо, поскольку формальное различие между димерной и бесконечномерной моделями агрегации проявляется именно в двукратном различии константы агрегации [4].

В результате исследования, проведенного в данной работе с помощью различных методик ЯМР-спектроскопии, было установлено, что соединения YAK-91 и SAF-23 обладают самым высоким сродством к агрегации среди всех синтезированных в рамках проекта платиносодержащих производных, что по-видимому обусловлено структурой NNC хромофора.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-03-00232 А.

1. Aia Y., Chanb M., Chanb A.K.-W., Ng M., Lia Y., Yama V.W.-W. A platinum(II) molecular hinge with motions visualized by phosphorescence changes // PNAS, 2019, vol. 116 (28), pp. 13856-13861.

2. Hernandez Santiago A.A., Buchelnikov A.S., Rubinson M.A., Yesylevskyy S.O., Parkinson J.A., Evstigneev M.P. Shape-independent model (SHIM) approach for studying aggregation by NMR diffusometry // The Journal of Chemical Physics, 2015, vol. 142, p. 104202.

3. Evstigneev M.P., Lantushenko A.O., Yakovleva Y.A., Suleymanova A.F., Eltsov O.S., Kozhevnikov V.N. Tuning the aggregation of NNC Pt(II) complexes by varying the aliphatic side chain and auxiliary side chain and auxiliary halide ligand: 1H and ^{195}Pt NMR investigation // European Journal of Inorganic Chemistry, 2019, vol. 38, pp. 4122-4128.

4. Evstigneev M.P., Buchelnikov A.S., Kostjukov V.V., Pashkova I.S., Evstigneev V.P. Indistinguishability of the models of molecular self-assembly // Supramolecular Chemistry, 2013, vol. 25 (4), pp. 199-203.

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ ФИЛЬТРАЦИИ ДАННЫХ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НА КАЧЕСТВО И ПОЛНОТУ DE NOVO СБОРКИ ТРАНСКРИПТОМА

Influence of the Degree of Sequencing Data Filtering on the Quality and Completeness of the de novo Transcriptome Assembly

Мегер Я.В.¹, Лантушенко А.О.¹, Водясова Е.А.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, meger_yakov@mail.ru

² ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского», г. Севастополь, РФ

Первый этап de novo сборки транскриптомов обязательно включает в себя оценку качества полученных прочтений после секвенирования и их дальнейшую фильтрацию. Подходы на этом этапе отличаются: или стараются максимально очистить полученные транскриптомы от низкокачественных и коротких прочтений, или наоборот сохранить все отсекаемые последовательности. При этом, исследований о том, как степень фильтрации может влиять на итоговую сборку крайне мало. Поскольку минимальная длина прочтений является решающей для выбора длины k-меров, мы предположили, что этот параметр может оказать влияние на получаемую сборку. Известно, что различные сборщики имеют в своей основе отличающиеся алгоритмы, что может приводить к существенным различиям в итоговой сборке. В данной работе рассмотрены некоторые подходы к этапу фильтрации прочтений перед сборкой и их влияние на результаты работы различных транскриптомных сборщиков.

De novo сборка транскриптома проводилась на одно-концевых прочтениях длиной 150 п.н., полученных с помощью NGS-секвенирования суммарной РНК из жаберных тканей *Mytilus galloprovincialis* на платформе Illumina Hi-Seq. Оценка качества прочтений проводилась с помощью программы fastqc [1]. Очистка прочтений проводилась при помощи программы fastp [2] с разной степенью фильтрации: минимальная (наибольшая полнота, длины прочтений 50-140 п.н.), мягкая (фильтрация в два этапа, длины прочтений 65-140 п.н.), средняя (фильтрация в два этапа, длины прочтений 85-140 п.н.), грубая (один этап фильтрации, длины прочтений 100-140 п.н.). У всех прочтений к концу падало качество и был высокий уровень дубликаций, что связано с наличием в пробах рРНК. Длина прочтений от 35 до 151, более 90% которых имеет длину более 149, в оставшихся подавляющее большинство в районе 70 пн. De novo сборка проводилась двумя алгоритмами, реализованными в транскриптомных сборщиках Trinity и rnaSPADES. Качество сборок оценивалось программой QUAST, оценка процента картирования прочтений на сборку, выполнялась в программе Bowtie2, предсказание белок кодирующих областей проводилось на основе анализа открытых рамок считывания с помощью программы Transdecoder, поиск консервативных генов выполнялся на основе базы генов-ортологов mollusca_odb10 (https://busco.ezlab.org/list_of_lineages) в программе BUSCO. Была проведена кластеризация собранных контигов с использованием Usearch, процент идентичности выбран 0,95, центроиды выбирались по наибольшей длине.

Суммарный объем прочтений составил 63,6 Gb. Длина прочтений до фильтрации составила от 35 до 151 п.н. (более 90% имело длину более 149 п.н.). Длина наибольшего контига в сборках с использованием Trinity составил 28175 п.н. для всех степеней фильтрации, с использованием gnaSPADES 17500±1000 п.н. Количество контигов в сборках с использованием Trinity в среднем составила ~250 тыс. (из которых 166 тыс. контигов ≥ 500 п.н.), с использованием gnaSPADES – 160 тыс. контигов (73 тыс. контигов ≥ 500 п.н.). GC состав всех сборок составил 34,88±0,2 %. Процент картирования прочтений на сборки для всех сборок составил 96±2 %, а количество выравниваний 1 раз для сборок с использованием Trinity 16,6±1%, для сборок с использованием gnaSPADES 40±4%. Для сборок с использованием Trinity было найдено ~110 тыс. белок кодирующих транскриптов, с использованием gnaSPADES – 78 тыс. Были обнаружены контиги с 7 рамками считывания. Поиск консервативных генов по базе mollusca_odb10 для сборок с использованием Trinity показал, что 4655±30 генов (1878±50 уникальных) найдено из 5295, с использованием gnaSPADES 4452±40 генов (3260±200 уникальных). Число контигов после кластеризации для сборок с использованием Trinity составило 78,1±0,7% относительно начального количества, с использованием gnaSPADES 94,4±2,5%.

С одной стороны, de novo сборка транскриптомов, проведенная с использованием gnaSPADES подвержена влиянию степени фильтрации и отличается большей чистотой сборок, но возможно меньшей степенью полноты, по сравнению с de novo сборкой Trinity. С другой стороны, сборки, полученные с помощью Trinity, имеют большое число химерных контигов и изоформ, что может приводить к трудностям на этапе оценки дифференциальной экспрессии транскриптов и некорректному анализу. Таким образом, для получения референсного транскриптома мы рекомендуем проводить объединение двух сборок (минимальная фильтрация, сборщик gnaSPADES и максимальная фильтрация, сборщик Trinity), так как использование только одной программы для de novo сборки транскриптомов может приводить к искаженным или неполным данным.

Работа выполнена в рамках государственной бюджетной темы (№ 0828-2018-0003), при поддержке Министерства образования и науки РФ (грант № 14.W03.31.0015) и внутреннего гранта СевГУ 2020 № 33/06-31.

1. Andrews S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. 2010. Available at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>

2. Shifu Chen, Yanqing Zhou, Yaru Chen, Jia Gu. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor // Bioinformatics, 2018, vol. 34 (17), pp 884-890.

3. Langmead B., Salzberg S. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 // Nature Methods, 2012, vol. 9, pp. 357-359.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ МЕТОДОМ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА Investigation of the Effect of Seed Treatment with Electromagnetic Radiation by Raman Scattering

Мельник Н.Н.¹, Савранский В.В.², Апашева Л.М.³, Лобанов А.В.³

¹ Физический институт им П.Н. Лебедева РАН, г. Москва, РФ, melnik@lebedev.ru

² Институт Общей физики им А.М. Прохорова РАН, г. Москва, РФ

³ Институт химической физики им Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ

В настоящее время большее внимание уделяется исследованию влияния электромагнитного излучения (далее ЭМИ) на растительные объекты, в том числе и на с/х значимые культуры. К преимуществам воздействия на растительные объекты ЭМИ, по сравнению с обработкой химическими препаратами, относятся:

- возможность обработки объекта в любых условиях, где есть доступ к электроснабжению,
- строгое дозирование воздействия, исключение загрязнения окружающей среды,
- исключаются дорогостоящие способы получения химических препаратов, их транспортировка.

В работе исследовалось воздействие высокочастотного ЭМИ на растительные объекты. Использовалось ЭМИ со следующими параметрами: рабочая длина волны 7,105 мм (частота ~42,194 ГГц), плотность мощности излучения на выходе волновода до 10 мВт/см². Тест-объектами для определения влияния ЭМИ обработки растений были: семена редиса сорт «18 дней», семена гороха сорт «Ранний», семена огурца сорт «Конкурент». Увлажнение семян проводили в дистиллированной воде. После предварительного увлажнения в течение 3 часов семена разделяли на контрольные и опытные партии. Опытную партию семян облучали ЭМИ, а затем растения подращивали в люминостате с ритмом освещения свет/темнота =12/12 час при температуре +20°C.

Тестирование действия ЭМИ на растения проводили по ряду морфологических тестов, а именно: развитие корневой и надземной частей растения; вступление растений в очередные стадии развития; учет количества жизнеспособных растений. Изучалось изменение водной среды, в которой культивировали обработанные ЭМИ и контрольные семена. Эффекты после обработки ЭМИ семян оценивали по количеству метаболитов, выходящих в водную среду культивирования. Определение изменений в водной среде вели методом комбинационного рассеяния света (далее КРС). Спектры КРС получали на спектрометре U-1000. Для возбуждения спектров использовали линию 514,53 нм излучения аргонового лазера.

Исследования показали, что при мощности излучения 5-7 мВт/см² ЭМИ оказывает ингибирующее действие на растительный материал. Стимулирующее воздействие ЭМИ проявляется при обработке семян потоком излучения мощностью 0,1 мВт/см².

Спектры КРС водной среды культивирования состоит из известных линий КРС воды (1640 см⁻¹ и 2800-3800 см⁻¹) и широкой полосы от 300 см⁻¹ до 4000 см⁻¹ обусловленной фотолюминесценцией веществ, которые переходят в воду из семян. Получено, что по этому тесту можно определять достаточно точно скорость и величину эффекта обмена семян метаболитами со средой культивирования. За время наблюдения количество метаболитов, вышедших в водную среду, в случае ингибирующего действия, значительно меньше, чем в случае стимулирующего воздействия ЭМИ. Эта тенденция не менялась на протяжении опыта.

Отметим, что достоверные отличия контрольных вариантов от опытных по морфологическим тестам можно получить через 20-40 часов от начала эксперимента, фиксируя сначала количество прорастающих семян, а далее уже степень развития проростков. Метод КРС позволяет оценить эффективность воздействия обработки значительно раньше. На примере с использованием ЭМИ-обработки показано, что высокочувствительный метод КРС может быть успешно применен для тестирования раннего отклика растительных объектов на стимулирующие либо ингибирующие воздействия.

ИЗМЕНЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛЁНОК ЛЕНГМЮРА-БЛОДЖЕТТ НА ОСНОВЕ ДИПАЛЬМИТОИЛФОСФАТИДИЛХОЛИНА ПОД ВЛИЯНИЕМ ФЛАВОНОИДОВ

Change of Thermodynamic Characteristics of Lengmur-Blodgett Films Based on Dipalmitoylphosphatidylcholine under the Influence of Flavonoids

Менухов В.О., Кассим М.М., Каневский М.В.

Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, РФ, matvejkanev@mail.ru

Современным отраслям науки требуются всё больше новых материалов и технологий для решения различных задач с использованием наноматериалов [1]. К таким материалам можно отнести плёнки Ленгмюра-Блоджетт. Немаловажно, что свойства плёнок будут варьировать в зависимости от состава субфазы, на которой они формируются [2]. Этот факт позволяет управлять процессом формирования плёнки.

Формирование и оценку свойств монослоев проводили нанесением 25 мкл раствора дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ) в хлороформе ($C=10^{-3}$ М) на установке KSV Nima LB TroughMedium KN 2002 при температуре $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Поверхностное давление (π) оценивали методом взвешивания пластины Вильгельми с точностью 0.1 мН/м. Флавоноиды растворяли в ДМСО и вносили в субфазу перед проведением эксперимента.

Показано, что как рутин (R), так и кверцетин (Q), оказывают влияние на монослои ДПФХ (рис. 1).

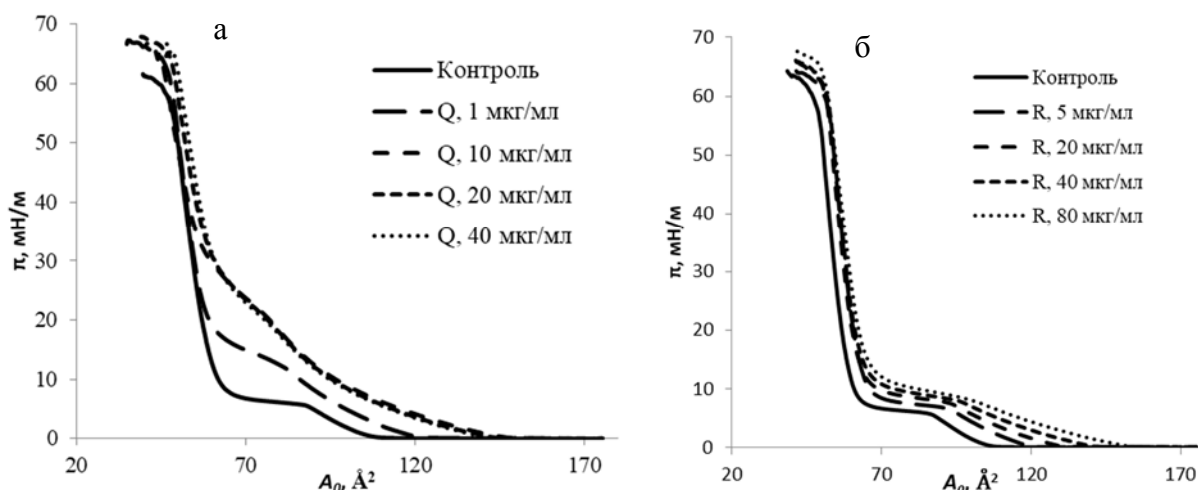


Рисунок 1. Изотермы сжатия монослоев арахиновой кислоты на водной субфазе, содержащей кверцетин (а) и рутина (б)

При введении в субфазу флавоноидов (как рутина, так и кверцетина) происходит сдвиг изотерм сжатия в область больших значений удельной площади монослоя относительно водной субфазы с добавлением ДМСО (контроль). Наблюдается зависимость происходящих изменений от концентрации флавоноидов в субфазе.

Присутствие кверцетина в субфазе приводит к большим изменениям параметров монослоя ДПФХ, в отличие от рутина. Это может быть обусловлено гликозилированием последнего.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что кверцетин более активно взаимодействует с молекулами монослоя в виду своей большей гидрофобности.

1. Андриевский Р.А. Наноматериалы: концепция и современные проблемы // Российский химический журнал (Журнал Российского химического общества им. Д. И. Менделеева), 2002, т. 46, № 5, с. 50-56.

2. Brezesinski G., Möhwald H. Langmuir monolayers to study the interactions at model membrane surfaces // Adv. Colloid Interface Sci., 2003, vol. 100, pp. 563-5842.

КЛАСТЕРИЗАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ, КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ УВЕЛИЧЕНИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Receptor Clusterization as the Mechanism of Synaptic Efficiency Increase

Мурзина Г.Б.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва, РФ, gbmurзина@mail.ru

Изменение синаптической эффективности нейронов зависит не только от изменения характеристик рецепторов и их количества на постсинаптической мембране, но и от количества и свойств таких образований, как рецепторные кластеры. Кластеризация различных типов ионотропных рецепторов на нейрональной мембране имеет некоторые закономерности. Формирование кластеров происходит в рафтах (rafts) - локусах мембраны, характеризующихся наличием большей, по сравнению с другими областями, концентрацией холестерина и сфинголипидов [1], и при наличии определенных белков, с которыми взаимодействуют рецепторы. Увеличение концентрации таких белков в результате пальмитоилирования происходит в прилегающей примембранной области, это белки постсинаптической плотности: PSD-95 и PSD-93, старгазин и GRIP, гепхурин (в тормозных синапсах) и рапсин (в нервно-мышечных синапсах) [2]. Взаимодействие рецепторов с этими примембранными белками и приводит к формированию в рафтах рецепторных кластеров. В этом процессе также может участвовать образующий примембранную решетку актиновый цитоскелет нейрона.

Необходимо отметить, что кластеризация рецепторов (вследствие фиксации их на локальной области мембраны) вызывает уменьшение количества рецепторов, находящихся в свободном состоянии. Поскольку и в диффузии, и в эндо- и экзоцитозе участвуют только рецепторы в несвязанном состоянии, то активизация их дополнительного транспорта из примембранного пула приводит также к увеличению общего количества мембранных рецепторов.

Согласно имеющимся данным [3] в кластерном состоянии рецепторы расположены достаточно близко друг к другу, и это может приводить к их взаимному влиянию, и к синхронизации их активности. При наличии взаимного влияния рецепторов, в случае активирования одного из них, может увеличиваться вероятность перехода в активное состояние расположенных рядом с ним рецепторов этого кластера. Расчеты показали, что тогда активация рецепторного кластера происходит при концентрации медиатора меньшей, чем та, которая необходима для активации одиночных рецепторов [4]. Математическое моделирование кластеризации рецепторов позволяет выяснить роль кластерного состояния рецепторов в синаптической модификации.

1. Zhu D., Xiong W.C., Mei L. Lipid rafts server as a signaling platform for nicotinic acetylcholine receptor clustering // J. Neurosci., 2006, vol. 26, pp. 4841-4851.

2. Мурзина Г.Б. Роль кластерного состояния рецепторов в синаптической пластичности // Журн. высш. нервн. деят., 2008, т. 58 (3), с. 276-293.

3. Scheefhals N., MacGillavry H.D. Functional organization of postsynaptic glutamate receptor // Molec. Cellular Neurosci., 2018, vol. 91, pp. 82-94.

4. Мурзина Г.Б. Модельные представления о межрецепторном взаимодействии кластерных рецепторов // Журн. высш. нервн. деят., 2008, т. 58 (6), с. 643-648.

НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ПАРЫ GC И ЭПИГЕНЕТИКА

Non Canonical Base Pairs & Epigenetics

Нечипуренко Ю.Д.¹, Семёнов Д.А.²

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, РФ, nech99@mail.ru

² Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, РФ

В течение последних десяти лет работы в области ЯМР ДНК позволили регистрировать не только канонические Уотсон-Криковские пары в ДНК, но и существующие несколько миллисекунд неканонические

пары [1]. Оказалось, что почти все возможные способы, которыми можно соединить нуклеотиды, реализуются при физиологических условиях в обычной ДНК. Удивительным результатом этого направления оказалась демонстрация высокой частоты встречаемости таких неканонических пар. Например, пара АТ при комнатной температуре в одном проценте случаев образует не Уотсон-Криковскую, а Хугстиновскую структуру. Такая распространенность заставляет заподозрить биологическую значимость этих структур. Например, некоторые пары рассматривались как связанные с эпигенетическими свойствами 5-метилцитозина [2].

Недавно было обнаружено, что механохимическое расщепление ДНК чувствительно к метилированию цитозина. Метилирование повышает частоту расщепления ДНК после цитозина в динуклеотиде CpG в 1,4 раза [3-6]. Можно предположить, что расщепление ДНК связано с образованием GC неканонических пар. Анализ результатов работ по механохимическому расщеплению ДНК позволил выделить из списка неканонических пар наиболее вероятного кандидата для того, чтобы объяснить наблюдаемые эффекты. Это GC Wobble пара, образованная таутомерной или протонированной (при кислом pH) формой цитозина [7,8].

Влияние заместителей на таутомерию позволяет предложить единый механизм эпигенетического функционирования четырех производных цитозина: 5-метилцитозин, 5-гидроксиметилцитозин, 5-формилцитозин и N4-метилцитозин.

Регуляторные белки могут в таком случае узнавать не метильную группу на цитозине, а гораздо более масштабное искажение структуры ДНК, вызванное GC Wobble парой. Две свободные аминогруппы этой пары, вероятно, тоже участвуют в узнавании. GC Wobble пара позволяет объяснить повышенную частоту дезаминирования цитозина, то есть высокую частоту мутаций в регуляторных участках.

Современные представления о ДНК отличаются от «статичной» конструкции Уотсона и Крика. ДНК «дышит» и движется. Управление неканоническими парами в ДНК это управление не только структурой, но и динамикой, так как эти пары короткоживущие и запасенная при их создании энергия через короткое время будет преобразована в колебания ДНК. Эпигенетика все больше становится объектом биофизики.

1. Nikolova E.N., Goh G.B., Brooks C.L., Al-Hashimi H.M. Characterizing the Protonation State of Cytosine in Transient G•C Hoogsteen Base Pairs in Duplex DNA // J. Am. Chem. Soc., 2013, vol. 135, № 18, pp. 6766-6769.

2. Rangadurai A., Kremser J., Shi H., Kreutz C., Al-Hashimi H.M. Direct evidence for (G)O6•••H2-N4(C)+ hydrogen bonding in transient G(syn)-C+ and G(syn)-m5C+ Hoogsteen base pairs in duplex DNA from cytosine amino nitrogen off-resonance R1ρ relaxation dispersion measurements // J. Magn. Reson., 2019, vol. 308, p. 106589.

3. Poptsova M.S., Il'icheva I.A., Nechipurenko D.Y., Panchenko L.A., Khodikov M.V., Oparina N.Y., Polozov R.V., Nechipurenko Y.D., Grokhovsky S.L. Non-random DNA fragmentation in next-generation sequencing // Sci. Rep., 2014, vol. 4, p. 4532.

4. Нечипуренко Ю.Д., Ильичева И.А., Абдуллаев Э.Т., Урошлев Л.А., и Гроховский С.Л. Физические характеристики регуляторных участков генома, эпигенетика и канцерогенез // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2018, т. 3, № 4, с. 884-887.

5. Ильичева И.А., Ходыков М.В., Панченко Л.А., Полозов Р.В., Нечипуренко Ю.Д. Ультразвуковое расщепление ДНК: анализ структурно-динамических характеристик регуляторных участков генома // Биофизика, 2020, т. 65, с. 504-511.

6. Uroshlev L.A., Abdullaev E.T., Umarova I.R., Il'icheva I.A., Panchenko L.A., Polozov R. V., Kondrashov F.A., Nechipurenko Y.D., Grokhovsky S.L. A Method for Identification of the Methylation Level of CpG Islands from NGS Data // Sci. Rep., 2020, vol. 10, p. 8635.

7. Semyonov D.A., Nechipurenko Y.D. Non-Canonical GC Base Pairs and Mechanochemical Cleavage of DNA // arXiv, 2001, 03561.

8. Semyonov D.A., Eltsov I.V., Nechipurenko Y.D. Non-Canonical GC Base Pairs and Mechanochemical Cleavage of DNA: An Unexpected Basis for Epigenetic Modifications // BioEssay, 2020, in press.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ МАГНИТНОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НЕЙТРОФИЛАМИ

Molecular Mechanisms of Magnetic Deprivation on the Production of Reactive Oxygen Species by Neutrophils

Новиков В.В., Яблокова Е.В., Шаев И.А.

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН «ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ, docmag@mail.ru

В литературе имеется ряд сообщений о снижении продукции активных форм кислорода (АФК) в гипомангнитных условиях в различных типах клеток и при различной экспозиции. Ранее нами было показано, что 1,5 часовое экспонирование перитонеальных нейтрофилов мышей при магнитном экранировании в гипомангнитных условиях (остаточное постоянное магнитное поле менее 20 нТл) вызывает снижение внутриклеточной продукции активных форм кислорода, регистрируемое по изменению интенсивности флуоресценции продуктов окисления 2,7- дихлордигидрофлуоресцеина и дигидрорадамина 123 [1].

В нейтрофилах имеется несколько основных систем, в которых свободные радикалы образуются в качестве основного или побочного продукта. Прежде всего, это NADPH-оксидазы, мембранные ферменты, продуцирующие супероксидный анион-радикал по реакции одноэлектронного восстановления. Кроме того, важной системой продукции АФК являются митохондрии. О возможном участии электрон-транспортной цепи митохондрий в механизме эффекта «нулевого» поля свидетельствует снижение продукции АФК, регистрируемое методом флуоресцентной спектроскопии, при добавке ротенона, значительно более выраженное в опытных образцах, подвергшихся действию гипомангнитных условий [2]. В данной работе для оценки радикал-продуцирующей способности нейтрофилов после действия «нулевого» поля мы применили другой метод – метод активированной хемилюминесценции с использованием селективного зонда на супероксид-анион – люцигенина. На этой экспериментальной модели с целью определения возможных источников продукции супероксида, реагирующих на действие гипомангнитных условий, мы применили ингибиторный анализ с использованием ингибитора NADPH-оксидазы - дифенилйодония и разобщителя окисления и фосфорилирования в митохондриях – 2,4 динитрофенола.

Показано, что предварительная инкубация суспензии нейтрофилов в «нулевом» магнитном поле, создаваемом системой магнитных экранов (остаточное постоянное магнитное поле не более 20 нТл), приводит к существенному снижению интенсивности их люцигенин-зависимой хемилюминесценции. Добавка в среду для инкубации ингибитора NADPH-оксидазы, дифенилйодония, приводит к снижению интенсивности хемилюминесценции, как в опытных, так и в контрольных образцах (геомагнитное поле). При этом, различия между группами, обусловленные действием «нулевого» поля, проявляются как при меньших концентрациях дифенилйодония (2,5; 5; 10 мкМ), так и при больших его концентрациях (50; 100 мкМ), приблизительно в одинаковой степени. В отличие от этого, добавка разобщителя окисления и фосфорилирования в митохондриях - 2,4-динитрофенола, начиная с концентрации 5 мкМ и далее, вплоть до 200 мкМ, практически полностью нивелировала различия между контрольными и опытными образцами, которые проявлялись при более низких концентрациях этого ингибитора и в его отсутствии.

Характер ингибирующего эффекта дифенилйодония, обнаруженный нами в настоящей работе на нейтрофилах, подвергшихся действию «нулевого» поля, делает сомнительным предположение о том, что NADPH-оксидаза является основным источником АФК, реагирующим на действие гипомангнитных условий. Напротив, опыты с динитрофенолом, разобщителем окислительного фосфорилирования, показавшие, практически полную отмену эффекта действия «нулевого» магнитного поля в его присутствии, делают обоснованным предположение о том, что именно митохондрии, как продуценты АФК, являются основной мишенью действия этого физического фактора.

1. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Влияние «нулевого» магнитного поля на продукцию активных форм кислорода в нейтрофилах // Биофизика, 2018, т. 63, № 3, с. 484-488.

2. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Валеева Э.Р., Фесенко Е.Е. К вопросу о молекулярных механизмах действия «нулевого» магнитного поля на продукцию активных форм кислорода в неактивированных нейтрофилах // Биофизика, 2019, т. 64, № 4, с. 720-725.

ГИПОТЕЗА О ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ РАДИАЦИОННЫХ ОЖЕ-ПРОЦЕССОВ КАК ФИЛЬТРА ПО ОТБОРУ ДИССИМЕТРИИ ЭНАНТИОМЕРОВ-БИОПОЛИМЕРОВ

Hypothesis of the Possible Role of Radiation Auger Processes as a Filter for the Selection of Dissymmetry in Enantiomers-Biopolymers

Оксенгендлер Б.Л.^{1,2}, Тураева Н.Н.³, Никифорова Н.Н.¹, Искандарова Ф.⁴, Минина М.В.⁵

¹ Институт ионно-плазменных и лазерных технологий АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

² Институт химии и физики полимеров АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан, oksengendlerbl@yandex.ru

³ Вебстерский университет, Вебстер-Гроувс, США

⁴ Центр профилактики чумы, карантинных и особо опасных инфекций, г. Ташкент, Узбекистан

⁵ ООО «NIKA PHARM», г. Ташкент, Узбекистан

Современная триадная парадигма живой материи однозначно выделяет особую значимость хиральной симметрии (в виде максимальной диссимметрии), причём, особенно, в плане проблемы эволюции [1]. Поскольку, в процессе эволюции всё время присутствовала радиация, то совершенно естественно поставить вопрос о роли в этой эволюции именно комбинационного рассматривания хиральной симметрии биополимеров и радиационного воздействия (особенно УФ, X-лучи). Именно такая цель и поставлена в данной работе. Рассмотрим деструкцию локальной области биополимера, содержащей достаточно тяжёлый атом (например, фосфор), причём, в качестве инициации – ионизацию его К-оболочки. Вслед за этим разворачиваются следующие события (много лет тому назад являвшиеся предметом анализа так называемой подпороговой радиационной физики [2]). Последовательность процессов такова: происходит реорганизация всей электронной оболочки (путём Оже-каскада), в результате чего в валентную оболочку поднимается многократный положительный заряд. Это состояние, естественно, неустойчиво и может релаксировать двумя конкурирующими путями. Это либо «заливание» (нейтрализация) этого заряда близлежащими электронами биополимера (с характерным временем процесса τ_e), либо «кулоновский взрыв» – разлёт положительных ионов из локально заряженной области (который реализуется за время τ_+). Квантово-механический расчет [2] даёт следующее выражение для вероятности (сечения) деструкции при такой конкуренции этих двух каналов:

$$\sigma_d = \sigma_K \alpha_A \eta; \quad \eta = \exp(-\tau_+/\tau_e); \quad \eta \ll 1 \quad (1)$$

В этом выражении α_A – вероятность релаксации К-дырки по каналу Оже-каскада; величина τ_+ – фактически универсальна и равна $5 \cdot 10^{-14}$ с. Величина же $\tau_e := \hbar/E_V$, где $\Delta E_V = \Delta E_V^0(\theta)^2/2$. Здесь ΔE_V – ширина валентной зоны, θ – хиральный угол биополимера. Именно τ_e и отражает все нюансы электронного строения в локальной области биополимера и может изменяться в очень широком диапазоне времени, изменяя η и σ_d на порядки. Тогда при переходе от нехиральной к хиральной макромолекуле мы получим следующее выражение:

$$\sigma_d(\theta)/\sigma_d(0) = [\eta(\theta = 0)]^{\theta^2/2}, \quad (2)$$

Таким образом, мы видим, что хиральные макромолекулы деструктируют под действием радиации гораздо сильнее, чем нехиральные, и физически это связано с тем, что время заливания у хиральных структур существенно больше, что в конечном итоге обусловлено меньшим перекрытием ближайших электронных облаков. Здесь оценка эффекта идёт на несколько порядков величины.

Более того, если рассмотреть точку касания доменов с двумя различными типами хиральности у квазиодномерного биополимера, то здесь угол θ в 2 раза больше и подстановка этой величины в выше изложенную формулу (1) покажет, что в данном случае сечение дефектообразования ещё более возрастает, что может иметь очень серьёзные последствия. Действительно, рассмотрим правый энантиомер – биополимер. Пусть на его конец попадёт левый элемент. Тогда, эта гетеро структурная граница отличается особой радиационной нестабильностью (по механизму Оже деструкции), которая на порядки выше по сравнению с гомо хиральным контактом. Кинетический анализ роста цепи (в рамках уравнения Фокена-Планка) позволяет сделать вывод о большой эффективности Оже процесса как фильтра сохранения исходной гомохиральности.

Интересно отметить, что Оже-фильтр уже сыграл свою роль в другой задаче отбора элементного состава живой материи, показав преференцию углеродной жизни по отношению к кремниевой [3].

1. Твердислов В.А., Малышко Е.В. О закономерностях спонтанного формирования структурных иерархий в хиральных системах неживой и живой природы // УФН, 2019, т. 189 (4), с. 375-385.

2. Yunusov M.S., Oksengendler B.L. et.al. Subthreshold defect production in silicon // Phys. Stat. Sol. (a), 1976, vol. 35, p. K145.

3. Oksengendler B.L. et.al. Hypothesis on synergism of radiation and water filters in formation of bioobjects // Uzbek Journal of Physics, 2019, vol. 21 (1), pp. 53-58.

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННЫХ СТРУКТУР ДНК В ИНТЕРФЕЙСАХ КОМПЛЕКСОВ ГОМЕОДОМЕН-ДНК Statistical Analysis of Spatial DNA Structures at the Interfaces of Homeodomen-DNA Complexes

Полозов Р.В.¹, Грохлина Т.И.², Панченко Л.А.³, Иванов В.В.^{4,5}

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, *polrob@mail.ru*

² Институт математических проблем биологии РАН– филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, г. Пущино

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

⁴ Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ

⁵ Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Москва, РФ

Специфические комплексы гомеодоменов с ДНК образуются при связывании белка с двуспиральной ДНК в В-форме (по широкому желобу). Классификация комплексов белок-ДНК и их интерфейсов по физико-химическим, геометрическим параметрам связана с решением ряда задач вычислительного и статистического характера. Классификация должна дать сведения о взаимосвязи комплексов друг с другом, дать возможность проследить их эволюцию и дать основу для формулировок правил узнавания и построения моделей узнавания. Для решения задач классификации необходимо составить список надлежащих дескрипторов комплексов и их интерфейсов, провести многомерный статистический анализ данных из этого списка. Мы используем геометрические параметры локальной структуры ДНК в интерфейсах 75 комплексов гомеодоменов-ДНК (PDB), параметры: Lu X.-J., Olson W.K. 3DNA: a software package.

В данной работе представлены результаты анализа «диккерсоновых параметров» и дана их физико-химическая и структурная интерпретация.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ И ГЕЛИОФИЗИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ В РАЗВИТИИ ПАНДЕМИИ ВИРУСА SARS-CoV-2

Biophysical and Heliophysical Factors and SARS-CoV-2 Virus Pandemic

Рагульская М.В.¹, Текуцкая Е.Е.², Барышев М.Г.², Обридко В.Н.¹

¹ Институт земного магнетизма и распространения радиоволн РАН, г. Москва, РФ, *ra_mary@mail.ru*

² Кубанский государственный университет, г. Краснодар, РФ

Протекание пандемий происходит по законам эпидемиологии. Однако на ранних этапах существуют дополнительные факторы внешней среды и особенностей генетики населения в каждом конкретном регионе, которые могут ускорить развитие локальной эпидемии, увеличить тяжесть ее протекания и уровень летальности. В 20 веке все пандемии гриппа происходили в максимумах солнечной активности, в 19 и 21 веке – только в максимумах и минимумах солнечной активности. Особенностью текущей пандемии вируса SARS-CoV-2, пришедшей на минимум 25-го цикла 11-летней солнечной активности (СА) при общем низком уровне квази-столетнего цикла СА [1] является значительная вариабельность числа летальных исходов на 1 млн населения в разных странах. Причем максимальные значения летальности наблюдаются в достаточно благополучных странах с высоким уровнем развития и организации медицины. Более того, относительная летальность, в Иране в 5-8 раз меньше, чем в Швейцарии и Бельгии. Парадоксальная разница в летальности (более чем в 5-15 раз) требует поиска факторов, не связанных с эпидемиологическими мерами и медицинским обслуживанием в конкретной стране. По-видимому, на начальных этапах развития локальных эпидемий тремя основными модулирующими факторами являются: 1. Гено-географическое распределение населения; 2. Динамика солнечной активности и галактических космических лучей; 3. Температурный режим окружающей среды.

Наиболее тяжело заболевание протекает на территориях Северной Италии, Испании, Франции, Великобритании, и США, т.е. в странах с высоким уровнем медицины. Все эти страны объединяют генетические особенности населения - доминантная гаплогруппа R1b. Генетические вариации, в частности, различия в выработке комплексов человеческих лейкоцитарных антител разных гаплогрупп, связаны с силой иммунных реакций на вирус населения [2]. На европейской территории России доминантной гаплогруппой является R1a, для которой оказалось характерно быстрое развитие эпидемии при низкой летальности и большом количестве бессимптомных больных. В северных областях России удельный вес R1a сокращается почти вдвое, уступая место гаплогруппе Nc1. Различия в генетическом составе населения может объяснить существенную разницу развития эпидемии в Москве и Санкт-Петербурге, и ее более мягкое течение в северной столице (рис. 1). Также необходимо заметить, что взрывное развитие локальных эпидемий соответствовало температуре окружающей среды около +10 градусов Цельсия и высокой влажности. Более позднее «размерзание» России после зимы обеспечило задержку распространения коронавируса по территории страны на 3-5 недель по сравнению с европейской ситуацией. Для подтверждения гипотезы о роли факторов внешней среды в развитии пандемии, в докладе приведены результаты экспериментов по исследованию воздействия электромагнитного излучения на

иммунокомпетентные клетки человека *in vitro*. Данное воздействие приводит к повреждению первичной структуры ДНК лимфоцитов: накоплению окисленных азотистых оснований и образованию односторонних разрывов [3,4].

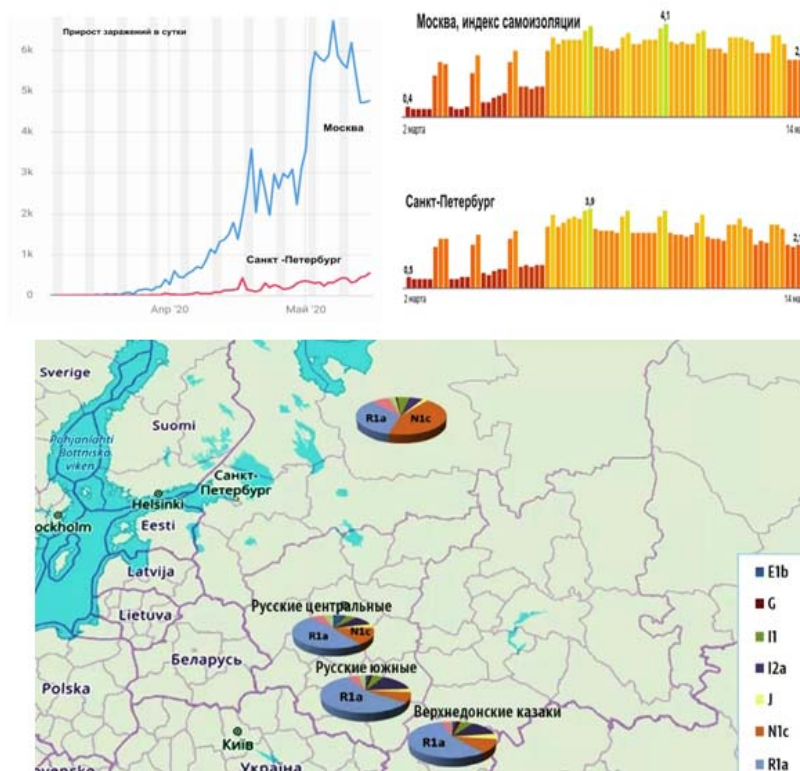


Рисунок 1. Сверху: Прирост заболеваемости COVID-19 Москва и Санкт-Петербург. Снизу: генетический состав населения

Работа частично поддержана программой 17 Президиума РАН «Эволюция органического мира и планетарных процессов» и российско-азербайджанским грантом РФФИ Аз_а_18-52-06002.

1. Рагульская М.В. Солнце и биосфера: миллиарды лет вместе. М.: Радиофизика, 2019, 147 с.
2. Nguyen A., David J.K., Maden S.K., Wood M.A., Weeder B.R., Nellore A., Thompson R.F. Human leukocyte antigen susceptibility map for SARS-CoV 2, 2020, DOI: 10.1128/JVI.00510-20.
3. Текуцкая Е.Е., Василиади Ю.А., Храмцова А.А. Влияние внешних факторов на повреждение и репарацию днк лимфоцитов периферической крови человека // Российский иммунологический журнал, 2015, т. 9 (18), № 3 (1), с. 223-225.

КОСМИЧЕСКАЯ ПОГОДА И БИМЕДИЦИНСКИЕ МОНИТОРИНГИ 1998-2019 гг Space Weather and Biomedical Monitoring 1998-2019

Рагульская М.В.¹, Обридко В.Н.¹, Бабаев Э.С.²

¹ Институт земного магнетизма и распространения радиоволн РАН, г. Москва, РФ, ra_mary@mail.ru

² Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан

Для выживания биосферы в целом важно сохранение программ защиты и подстройки различных временных масштабов к факторам космической погоды и динамики Солнца: 1. К сильному УФ-излучению, рентгену и солнечным космическим лучам во время периодов повышения или понижения солнечной активности (характерное время - несколько раз за тысячелетие); 2. К инверсиям магнитного поля Земли (характерное время – несколько раз за миллион лет); 3. Сохранение программ адаптации к повышению уровня галактических космических лучей при прохождении Солнечной системой плотных рукавов Галактики (несколько раз за миллиард лет). Молодое Солнце было более слабым, его светимость составляло 70% от современного значения. При этом более активная вспышечно-хаотическая динамика нашей звезды обеспечивала на несколько порядков более интенсивный солнечный ветер и поток солнечных космических лучей (СКЛ), усиленно бомбардировавших поверхность Земли и первые биологические системы. Более подробно динамика молодого Солнца рассмотрена в [1]. Наиболее сильные эволюционные изменения излучение Солнца претерпело в ультрафиолетовом и

рентгеновском диапазоне (рис. 1). Развитие биосферы, эволюционная адаптация, а также формирование технологий сохранения и переработки энергии древними биосистемами (например, фотосинтез) сильно зависели от характеристик солнечного излучения, галактических космических лучей и космической погоды в целом.

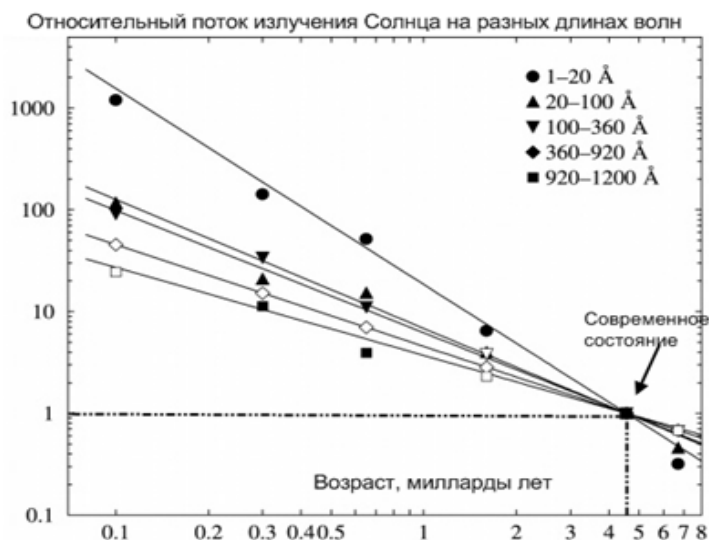


Рисунок 1. Эволюция излучения Солнца на разных длинах волн от возникновения Солнечной системы до наших дней, а также до возраста 8 млрд лет. За единицу интенсивности принято современное значение (Ribas et al., 2005)

В 2020 году наблюдается одновременный глубокий минимум квази-стоletнего и минимум 11-летнего цикла солнечной активности, что сказывается на эпидемиологической обстановке в мире, особенностях течения пандемии COVID-19, неэффективности лекарств и карантинных мер. Регуляторные механизмы биосферы откликаются как на высокие, так и на низкие периоды солнечной активности (СА), меняется только удельный вклад основных действующих факторов космической погоды [2]. Во время кратковременных вариаций СА (период – несколько дней) основными биотропными факторами являются скорость изменения параметров и частотный состав возмущений, в более долговременной перспективе (до 10 лет) – длительность максимума или минимума. В максимуме СА существенным оказывается вклад вариаций геомагнитного поля, вариаций ультрафиолетового излучения Солнца и солнечных космических лучей, а в минимуме на роль основного регуляторного биотропного фактора претендуют галактические космические лучи. Современные системообразующие функции космогеофизических факторов состоят в: 1. Синхронизации индивидуальных ритмов, 2. Синхронизации ритмов внутри сообщества организмов, 3. Генерации новой информации в процессе эволюционной адаптации.

Выявление биотропного воздействия космической погоды на длинных периодах требует проведения биомедицинских и экологических мониторингов значительной длительности, сопоставимой с 11-летними циклами солнечной активности. Проведенные одновременно в разных городах (от Якутска до Баку) биомедицинские мониторинги 1998-2019 гг сердечной деятельности постоянных групп обследуемых выявили всеобщий и одновременный в пределах суток характер наблюдаемой приспособительной реакции на вспышечные процессы на Солнце и сопровождающие их изменения магнитного поля Земли. Рассмотрены особенности адаптивной реакции в разных фазах солнечного цикла. Было показано, что к вариациям космофизических факторов и магнитного поля Земли чувствительны ВСЕ здоровые люди, причем амплитуда и длительность их реакции превышает аналогичные параметры у больных. В 20% случаев выявлено различие реакции по гендерному признаку. Результаты исследований обобщены в [1,2].

Работа частично поддержана программой 17 Президиума РАН «Эволюция органического мира и планетарных процессов» и российско-азербайджанским грантом РФФИ Аз_а_18-52-06002.

1. Рагульская М.В. Солнце и биосфера: миллиарды лет вместе. М.: Радиофизика, 2019, 147 с.

2. Ragul'skaya M.V., Rudenchik E.A., Chibisov S.M., Gromozova E.N. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2015, vol. 159, iss. 2, pp. 269-272, URL: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10517-015-2939-0>.

СИСТЕМНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ И АГЕНТНЫЕ МОДЕЛИ В БИОЛОГИИ

System-dynamic and Agent-based Models in Biology

Ризниченко Г.Ю.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, riznich@biophys.msu.ru

История развития математического моделирования процессов в живых системах прошла несколько этапов. До второй половины 20 века были предложены лишь отдельные феноменологические модели процессов в живых системах. Некоторые наиболее известные из них: модель неограниченного роста Мальтуса ограниченного роста Ферхюльста, модели взаимодействия биологических видов Вольтерра, модель роста микроорганизмов в проточной культуре Моно. Во второй половине 20 века круг моделируемых процессов существенно расширился, появились модели ферментативных реакций, модели метаболической и генной регуляции. Получили развитие качественные модели, представлявшие собой системы нелинейных дифференциальных уравнений для 2-х или 3-х переменных, допускающие аналитическое исследование методами качественной теории дифференциальных уравнений. Представление о наличии «узкого места» (bottle neck), соответствующее принципу минимума Либиха (Liebig, 1840; Либих, 1936; Левич, 2012), теория лимитирующего фактора; учет иерархии времен (теорема Тихонова) давали возможность упростить систему уравнений, описывающую процессы, и правильно отразить в модели некоторые характерные черты динамики биологических процессов, протекающих в системе.

Перечисленные выше «классические» модели математической биологии представляют «системно-динамический» подход к моделированию. Он состоит в том, что у изучаемой системы выделяются описывающие систему измеримые характеристики (концентрация веществ, численность видов), постулируется достаточность выделенных характеристик для описания системы (гипотеза о замкнутости) и ищутся связи между этими характеристиками [1]. В докомпьютерную эпоху большинство моделей имели именно такой «феноменологический» характер. Динамические, или кинетические, модели сыграли большую роль в математической биологии. Они позволили дать качественные предсказания условий, при которых возможны сложные динамические режимы в системе: колебания, хаос, пространственно-временные режимы типа автоволн и неомогенных структур.

В реальных живых системах параметры непрерывно меняются, лимитирующие стадии переключаются, и описание с помощью небольшого числа уравнений в большинстве случаев отражает лишь самые общие качественные черты процессов, например, наличие автоколебаний или автоволн. Предложенные феноменологические модели были слишком схематическими и не могли удовлетворить биологов, обладавших обширными знаниями о сложной организации биологических систем.

Ситуация в математическом моделировании существенно изменилась в конце 20 века, когда с появлением и бурным развитием компьютерной техники стало возможным решать системы огромного числа уравнений, моделировать процессы в системах со сложной геометрией. Современные информационные технологии позволяют моделировать процессы в многокомпонентных системах, используя большие массивы данных. Знания о биологических системах непрерывно умножаются с помощью быстро развивающейся экспериментальной техники, причем обработка больших объемов получаемых данных (Big data) в свою очередь требует достаточно изощренных математических методов.

В начале 21 века при моделировании систем самой разной природы получили распространение так называемые «агентные» модели. «Объектный», «атомистический», «агентный», «корпускулярный» метод моделирования предполагает выводить свойства сложных систем из свойств и способов взаимодействия составляющих эти системы «агентов» или «атомов» - неких простейших объектов, составляющих эту систему. «Агентное» и «системно-динамическое» описания взаимно дополняют друг друга. В большой мере способ описания определяется целями моделирования. Для ответа на качественные вопросы о типе динамического поведения системы часто удобно описывать систему с помощью упрощенной «феноменологической» модели. Для выяснения физических (биофизических) механизмов взаимодействия биомакромолекул в клеточных системах, или особей в популяции, необходимы «атомистические» модели. Наиболее полное знание получается в тех областях, где оба описания проникают друг в друга. Классическим примером является истолкование термодинамических потенциалов методами статистической физики.

В докладе приводятся примеры системно-динамических и агентных моделей из различных областей математической биологии: популяционной динамики, теории эпидемий, моделирования процессов в фотосинтетической мембране.

Работа выполнена при частичной поддержке фондов РФФИ. №20-04-00465 и РНФ №20-64-46018

1. Павловский Ю.Н., Белотелов Н.В., Бродский Ю.И. Компьютерное моделирование. М.: Физматкнига, 2014.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ДЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЛИПОСОМНОЙ ДИЕТЫ НА АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИПИДОВ МОЗГА МЫШЕЙ

Effect of Long-term Functional Liposomal Diet Composition on Antioxidative Activity of Mouse Brain Lipids

Сажина Н.Н.¹, Попов И.Н.², Семенова М.Г.¹, Антипова А.С.¹, Мартиросова Е.И.¹, Пальмина Н.П.¹

¹ Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, natnik48s@yandex.ru

² НИИ антиоксидантной терапии, г. Берлин, Германия

В настоящее время много исследований посвящено созданию эффективных систем доставки незаменимых полиненасыщенных жирных кислот (ω -3, ω -6) и различных функциональных нутрицевтиков (антиоксидантов, витаминов, полифенолов и пр.) в организм человека через пищевые системы [1]. Одними из таких систем являются наноконструкции на основе липосом соевого фосфатидилхолина (ФХ) с включенными нутрицевтиками [2], длительное потребление которых может оказать влияние на антиокислительный статус различных органов и тканей живых организмов.

Цель настоящей работы – установить связь между антиокислительной активностью (АОА) липидов мозга мышей и составом их функциональных липосомных диет.

АОА липидов мозга определялась методом термoinициированной хемилюминесценции (ТIC). Было проведено исследование изменения АОА липидов мозга 8 групп мышей в зависимости от состава липосомных наноконструкций, введенных в их длительную (3 месяца) комплексную диету. Две группы мышей (1 и 8) были контрольными (в начале и конце эксперимента), не потребляющие липосомы. Компонентами 6 видов липосом для остальных групп, кроме ФХ, из которого формировались липосомы, в разном сочетании служили: эфирное масло гвоздики (ЭМГ), рыбий жир (РЖ) и казеинат натрия (Cas-Na). Эти компоненты выполняли следующие функции: ЭМГ вводилось в липосомы для защиты их от окисления, рыбий жир и ФХ были источниками незаменимых ω -3 и ω -6 жирных кислот, а Cas-Na служил защитной водорастворимой белковой оболочкой липосом для лучшей доставки их по кровеносному руслу в мозг мышей. Выполнена сравнительная оценка эффективности действия каждой из липосомных диет на АОА липидов мозга мышей *in vivo*.

Результаты работы показали, что диета мышей, содержащая липосомы из ФХ с добавлением в них рыбьего жира, ЭМГ и инкапсулированных оболочкой из Cas-Na, оказалась самой эффективной в отношении увеличения АОА липидов мозга мышей по сравнению с другими диетами и контролем. По-видимому, это можно объяснить накоплением в липидах мозга мышей очень активного жирорастворимого антиоксиданта эвгенола, содержащегося в ЭМГ. Из рыбьего жира, кроме ω -3 и других жирных кислот, в клетки мозга попадают еще жирорастворимые витамины Е, А и D. Инкапсуляция липосом белковой оболочкой из Cas-Na способствует лучшей доставке антиоксидантов из липосом в клетки мозга и препятствует их расходованию в процессах ПОЛ.

Такую функциональную диету можно рекомендовать для практического использования.

1. McClements D.J., Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds. CRC Press Taylor and Francis Group. New York. 2014.

2. Sazhina N.N., Antipova A.S., Semenova M.G., Palmina N.P. Initiated Oxidation of Phosphatidylcholine Liposomes with Some Functional Nutraceuticals // Russ. J. Bioorgan. Chem., 2019, vol. 45, № 1, DOI: 10.1134/S1068162019010138.

РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА *IN VITRO* НА РАННИХ ЭТАПАХ РОСТА В УСЛОВИЯХ ФОТОРЕСПИРАТОРОГО СТРЕССА

Development of Cucumber Plant *in vitro* on Early Growth Stages Under Conditions of Photorespirator Stress

Сергейчев К.Ф.¹, Апашева Л.М.², Лобанов А.В.², Лукина Н.А.¹

ФГБУН ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН (ИОФ РАН)», г. Москва, РФ,

ФГБУН ФИЦ химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва, РФ

k-sergeichev@yandex.ru, natlukina1946@yandex.ru

В работе изучалось развитие растения огурец сорта «Конкурент» на ранних этапах роста *in vitro* в герметичных стеклянных сосудах, начиная с проростков семян, развивающихся за счет внутренних ресурсов, запасенных в семени, в ограниченных объемах воды и воздуха при атмосферном давлении и в отсутствие почвогрунта [1]. Опыты проводились в одинаковых условиях для дистиллированной воды (ДВ) и воды, активированной плазмой (ВАП). ВАП получали непрерывной обработкой ДВ струей СВЧ плазмы аргона в течение 30 минут в открытой атмосфере. СВЧ при мощности 0,9 кВт [2]. Температура плазмы аргона ~4000 К. ВАП представлял собой водный раствор пероксида водорода с концентрацией $[H_2O_2] = 3 \times 10^{-3}$ М (измерено методом йодометрии) и оксидов азота $[NO_x] \leq 7 \times 10^{-4}$ М. Посторонних примесей в виде окислов металлов и др. ВАП не содержал. В сосуды наливали раствор и помещали наклонившиеся семена,

которые предварительно замачивали в течение 24 часов в ДВ. Средние весовые характеристики группы испытуемых семян из 5 растений: сухих семян – 0,14 г, наклонувшихся – 0,2 г, вес проростков с начально раскрытым листом – 0,5 г. Объем сосудов варьировался от 4,4 мл до 15 мл, количество раствора от 0,2 мл до 6,6 мл. Использовались стеклянные культуральные сосуды с притертыми крышками, которые для надежной консервации заливали парафином и помещали в люминостат с лампами белого света с инсоляцией близкой к дневной. Условия опытов постоянные: температура 20° С, освещение свет-темнота 12:12 час. Сосуды не вскрывали на протяжении 40 суток до окончания опытов. Отмечалось время появления первого свободного зеленого листа, время появления и исчезновения водного конденсата на стенках сосудов, характеризующего интенсивность фотосинтеза, увеличение высоты проростков, а к окончанию опытов – потерю тургора и начало побурения листьев. В опытах использовались растворы различного разведения от 10 до 1000 раз, что соответствует значениям концентрации $[H_2O_2]$ от 4×10^{-4} М до 8×10^{-6} М. Максимальная высота у 30% растений к 25 суткам достигла 6 см (высота сосуда) в ВАП с разведением в 100 и 500 раз. При разведении в 10 раз растения не развивались с самого начала опыта вследствие эффекта блокировки из-за высокой концентрации раствора. Разведение ВАП в 1000 раз не показал по сравнению с ДВ (контроль) заметного влияния на развитие растений. К 40 суткам опыта живые растения и с максимальной высотой сохранились в растворах ВАП со 100-и 500 кратным разведениями. Взвешивание герметизированных культуральных сосудов с растениями в начале и в конце опытов подтвердило соответствие с законом сохранения материи постоянство их весов.

Выводы:

1. Начинаящие проращать семена вырастают до размеров рассады в замкнутом, изолированном от окружающей среды объеме, содержащем лишь воду, активированную плазмой с концентрацией пероксида водорода $[H_2O_2]$

3×10^{-3} М, при оптимальном разведении ВАП в 100 и 500 раз без почвогрунта и питательных добавок. Запасенных в семенах веществ и объема воды оказывается достаточным для роста растений.

2. ВАП способствует быстрому ускоренному развитию растений, и увеличивает объем зеленой массы, продолжительность их жизни. ВАП служит дополнительным к ДВ источником кислорода и азота.

3. Растения, выращенные на ДВ, доживали максимум до 15 суток, тогда как, выращенные на ВАП с разведением в 100 – 500 раз, доживали до 40-х суток, и уже к 25-м суткам их высота достигала высоты сосуда 6 см.

4. Раствор ВАП с $[H_2O_2] = 4 \times 10^{-4}$ М блокирует рост растений.

5. Появление зеленого листа, сопровождается периодическим выпадением конденсата, который исчезает при гибели растения с прекращением фотосинтеза.

1. Anna Norris Man's Thriving Garden, Sealed in a Bottle, Hasn't Been Watered in Decades // Home and Garden April 07 2016

2. Андреев С.Н., Апашева Л.М., Лобанов А.Б., Лукина Н.А., Савранский В.В., Сергейчев К.Ф. «Способ плазменной активации воды или водных растворов и устройство для его осуществления» Патент РФ № 2702594, публикация от 08 октября 2019 г.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ СИСТЕМ «ФОТОДИТАЗИН-ПЛУРОНИК F127-ХИТОЗАН» В УСЛОВИЯХ ФОТОАКТИВАЦИИ НА РАЗВИТИЕ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В ИНФИЦИРОВАННЫХ РАНАХ

The Influence of Polymer Systems «Fotoditazin-pluronic F127-chitosan» under Photoactivation on the Infected Wounds Healing

Соловьева А.Б., Шехтер А.Б., Глаголев Н.Н., Тимашев С.Ф.

ФИЦ химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г.Москва, РФ, ann.solovieva@gmail.com

В связи с ростом приобретенной резистентности бактериальных и грибковых патогенов к лекарственной терапии большое значение для лечения локальных инфекций приобретает использование фотодинамической терапии (антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ)), в основе которой лежат цитотоксические свойства активных форм кислорода (АФК), генерируемых фотосенсибилизаторами (ФС) – порфиринами и хлоринами в возбужденном состоянии. Как было показано, АФДТ является перспективным методом лечения инфицированных хирургических и ожоговых ран, трофических и диабетических язв, пролежней [1]. Важно отметить, что штаммы с множественной устойчивостью к антибиотикам, так же легко уничтожаются АФДТ, как и наивные (т.е. не имевшие контактов с антибактериальными препаратами) бактерии. При этом устойчивость к АФДТ у бактерий не развивается [2]. Среди микробных патогенов серьезной лекарственной устойчивостью обладают грамотрицательные бактерии, а потому лечить заболевания, вызванные такой микрофлорой, чрезвычайно трудно. Они так же считаются наиболее устойчивыми и к фотодинамическим воздействиям, что связано с низкой проницаемостью их внешней мембраны для красителей. Известно, что катионные ФС наиболее эффективны при АФДТ в отношении грамотрицательных бактерий [2]. Одним из поликатионных носителей,

широко используемых в медицинских целях, является хитозан (ХТ) - природный полисахарид, растворимый в слабокислой среде. Композиции на основе хитозана применяются как при лечении ран и ожогов, так и в фотодинамической терапии. Однако взаимодействие поликатионного хитозана и ФС может снижать их активность в процессах генерации синглетного кислорода, что связано с агрегацией молекул ФС вблизи протонированных аминогрупп хитозана [3]. При этом повысить активность систем ФС-хитозан в фотогенерации $^1\text{O}_2$ в водной фазе, как было нами показано ранее, можно добавлением амфифильного полимера (АП), в качестве которого можно использовать поливинилпирролидон или тройной блок-сополимер этилен- и пропиленоксида (плуроник) [3]. Очевидно, в присутствии АП фотосенсибилизатор координируется с молекулами амфифильного полимера (взаимодействие за счет гидрофобных и водородных связей), что способствует дезагрегации ФС и препятствует его взаимодействию с молекулами хитозана. Ранее в экспериментах по изучению влияния АФДТ на раневой процесс в неосложненных ранах было показано, что при использовании в качестве фотосенсибилизатора комплексов фотодитазина (ФДн) с различными АП, в том числе с плуроном F127, заметно повышает терапевтическую эффективность процедуры (наблюдалось снижение геморрагической реакции по сравнению с сеансами АФДТ с ФДн) [1].

В данной работе в экспериментах *in vivo* на модели полнослойной раны, инфицированной ассоциированной культурой грамположительных бактерий и грамотрицательных палочек, изучали эффективность АФДТ с использованием водных растворов ФДн и его комплексов с плуроном F127 и хитозаном, а также их влияние на заживление ран. Микробиологическими исследованиями установлено, что фотоактивация фотодитазина и его комплексов подавляет *in vivo* рост грамположительной, и грамотрицательной раневой микрофлоры и препятствует развитию гнойного воспаления в инфицированных полнослойных ранах кожи. Наибольший антибактериальный эффект обеспечивает использование тройной системы «ФДн-плуроник-хитозан». Морфологические исследования показали, что АФДТ с полимерными комплексами фотодитазина стимулирует быстрый переход воспалительной фазы раневого процесса в репаративную (пролиферативную) фазу. Ускоряется очищение ран от микрофлоры и девитализированных тканей, восстановление нарушенной микроциркуляции, пролиферация фибробластов и сосудов, синтез коллагена. Сделан вывод о возможном использовании такого препарата в процедурах АФДТ для профилактики и лечения инфекционно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей.

1. Rudenko T.G., Shekhter A.B., Guller A.E., Aksenova N.A., Glagolev N.N., Ivanov A.V., Aboyants R.K., Kotova S.L., Solovieva A.B. Specific features of early stage of the wound healing process occurring against the background of photodynamic therapy using fotoditazin photosensitizer-amphiphilic polymer complexes // Photochem. Photobiol., B, 2014, vol. 90, iss. 6, pp. 1413-1422, DOI: 10.1111/php.12340.

2. Hamblin M.R., Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? // Photochem Photobiol Sci., 2004, vol. 3, iss. 5, pp. 436-450, DOI: 10.1039/b311900a.

3. Solovieva A.B., Kardumian V.V., Aksenova N.A., Belovolova L.V., Glushkov M.V., Kotova S.L., Timashev P.S. Optimization of photosensitized tryptophan oxidation in the presence of dimegin-polyvinylpyrrolidone-chitosan systems // Scientific Reports, 2018, vol. 8, art. num. 8042, DOI: 10.1038/s41598-018-26458-6.

ТЕРМОДИНАМИКА НАТИВНОЙ СТРУКТУРЫ ГЛОБУЛЯРНОГО БЕЛКА

Thermodynamics of the Native Structure of Globular Protein

Хечинашвили Н.Н.¹, Кондратьев М.С.¹, Полозов Р.В.²

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ nikolay@icb.psn.ru

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ

Проведен анализ температурной зависимости парциальной теплоемкости нативной структуры глобулярного белка в водном растворе. Показано, что эта зависимость линейна. Это обусловлено составляющими вкладами вибрационной и конформационной энергии, что свидетельствует об отсутствии изменения объема или конформационных переходов вплоть до основного конформационного перехода. Макромолекула белка имеет двухуровневую организацию пространственной структуры. Внутренняя область белка представляет собой «ядро», ответственное за устойчивость глобулярной структуры. Боковые радикалы аминокислотных остатков поверхностного слоя динамичны и составляют основу биологической функции белка.

РАЗДЕЛЕНИЕ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ КУЛЬТУРЫ И АЦЕТОНОВОГО ЭКСТРАКТА МИКРОВОДОРОСЛИ *TETRASELMIS VIRIDIS* НА СПЕКТРЫ ОТДЕЛЬНЫХ ПИГМЕНТОВ

Decomposition of Cultural Absorption Spectra and the Acetone Extract of Microalgae Tetraselmis Viridis into Spectrum of Individual Pigments

Чернышев Д.Н.¹, Горбунова С.Ю.²

¹ Севастопольский государственный университет г. Севастополь, РФ, chernishev@gmail.com

² ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Разделение физико-химическими методами смеси пигментов на отдельные составляющие часто приводит к искаженным результатам исследований, из-за нарушения системы комплексных меж молекулярных взаимодействий. Изменения в окружении хромофорных групп могут повлечь за собой изменения спектральных характеристик. В частности, сдвиг максимумов поглощения хлорофилла а нативной форме и в ацетоновом экстракте [1]. Одним из решений проблемы является разложение нативного спектра поглощения математическими методами. Данная задача требует разработки способа разложения спектра поглощения культуры на спектры отдельных пигментов. В настоящей работе нами проанализированы спектральные свойства ацетонового экстракта микроводоросли *Tetraselmis viridis* и нативный спектр поглощения культуры данной микроводоросли. Целью настоящей работы явилось разрешение, идентификация и анализ перекрывающихся полос поглощения отдельных пигментов в спектре поглощения культуры, поскольку спектроскопия до сих пор остается одним из наиболее эффективных и доступных методов при анализе свойств пигментов.

В опытах использовали альгологически чистую культуру *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) [2] – штамм IBSS-25 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН». Пигменты экстрагировали из клеток микроводоросли ацетоном (100%) [3]. Спектры поглощения ацетоновых экстрактов фиксировались на спектрофотометре СФ 2000, в диапазоне от 400 до 800 нм, в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 1 см. Спектры нативных культур регистрировались на спектрофотометре Lambda 35 с интегрирующей сферой.

Содержание пигментов было вычислено по спектру поглощения ацетонового экстракта методом GPS [4]. Разделение показало, что основные каротиноиды это лютеин и неоксантин. Так же был проведен анализ нативного спектра поглощения культуры. Нативный спектр поглощения разделен на отдельные кривые Гаусса, а затем проведено соотношение каждой кривой с соответствующим пигментом. Каждый пик описан формулой:

$$D(\lambda) = D_{\max} e^{-\ln 2 \left(\frac{\lambda_i - \lambda_{\max}}{\sigma} \right)^2} \quad (1)$$

где:

$D(\lambda)$ – оптическая плотность, отн. ед.

λ_i – длина волны, нм

$\lambda_{\max}$ – положение максимума пика, нм

$D_{\max}$ – амплитуда пика, отн. ед.

σ – полуширина пика, нм

Таблица 1. Рассчитанные характеристики отдельных пиков в спектре поглощения культуры

№ пика	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$\lambda_{\max}$	421,6	439,4	478,9	490,3	500,0	543,3	574,7	589,6	634,2	649,2	674,7	683,6
$D_{\max}$	1,5767	0,1837	0,4013	0,8447	0,1088	0,0794	0,2578	0,0381	0,5994	0,2803	1,0736	0,2479
σ	40,8	10,7	21,8	33,0	13,5	12,2	27,4	13,3	38,6	7,8	14,9	6,3

Анализируя литературные данные [1, 5], можно связать пики с конкретными пигментами. Полученные данные (максимумы, соотношения амплитуд, и полуширины) можно использовать как математическую модель отдельных пигментов. Предложенный метод разделения нативного спектра поглощения культуры можно использовать на практике для быстро определения содержания пигментов, не прибегая к их экстракции.

1. Bidigare R.R. et al. In-vivo absorption properties of algal pigments // Ocean Optics X. – International Society for Optics and Photonics, 1990, vol. 1302, pp. 290-302.

2. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway (taxonomic information republished from AlgaeBase with permission of M.D. Guiry). *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R.E.Norris, Hori & Chihara, 1980. Accessed through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=838159> on 2019-12-10, 2019.

3. Копытов Ю.П. и др. Методика комплексного определения биохимического состава микроводорослей // Альгология, 2015, т. 25, № 1, с. 35-40.
4. Kupper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra // Analytical chemistry, 2007, vol. 79, № 20, pp. 7611-7627.
5. Hoepffner N., Sathyendranath S. Effect of pigment composition on absorption properties of phytoplankton // Mar. Ecol. Prog. Ser., 1991, vol. 73, № 1, pp. 11-23.

ИЗМЕНЕНИЯ В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ ТИРОЗИН ФОСФАТАЗЫ РТР1В ЧЕЛОВЕКА ПРИ СВЯЗЫВАНИИ С АЛЛОСТЕРИЧЕСКИМ ИНГИБИТОРОМ

Alteration in the Active Centre of Human Tyrosine Phosphatase PTP1B induced by allosteric inhibitor

Чиргадзе Ю.Н.¹, Бражников Е.В.¹, Батайли К.П.², Романов В.², Лин А.³, Лэм Р.³, Гордон Р.³,
Чиргадзе Н.Ю.^{3,4}

¹ Институт белка РАН, г. Пущино, РФ, *chir@vega.protres.ru*

² Аргоннская национальная лаборатория, г. Аргонн, США

³ Университетская сеть здравоохранения, г. Торонто, Канада

⁴ Университет Торонто, г. Торонто, Канада

Белковые тирозин фосфатазы относятся к обширному семейству ферментов, связанных с передачей сигналов к рецепторам [1]. Тирозин фосфатаза РТР1В человека является негативным регулятором метаболизма гормонов инсулина и лептина, которые прямо связаны с диабетом 2 и ожирением [2,3]. Мы получили структуры кристаллов высокого разрешения для апо-фермента и его комплекса с аллостерическим ингибитором Р00058, пирролидин производным бензойной кислоты. Сравнение двух структур показало, что связывание с ингибитором приводит к изменению главной белковой цепи в области активного центра фермента несмотря на то, что место контакта удалено на 18 Å (рис. 1). Активность фермента при этом падает, и это происходит в результате передачи конформационного сигнала от места связывания ингибитора к активному центру фермента. Каталитическая область фермента включает десять функциональных остатков, их боковые группы расположены в обширной зоне около 7 Å в районе центрального нуклеофильного остатка Cys215. В структуре с ингибитором обнаружены сдвиги Cα-атомов основной цепи белка для 15 остатков в интервале от 0,6 до 2,7 Å. Все эти остатки расположены в области активного центра или вблизи от неё, что указывает на эффективность предложенного ингибитора. Полученный результат по передаче конформационного сигнала от места связывания ингибитора Р00058 в область активного центра тирозин фосфатазы РТР1В позволяет понять механизма действия ингибитора.

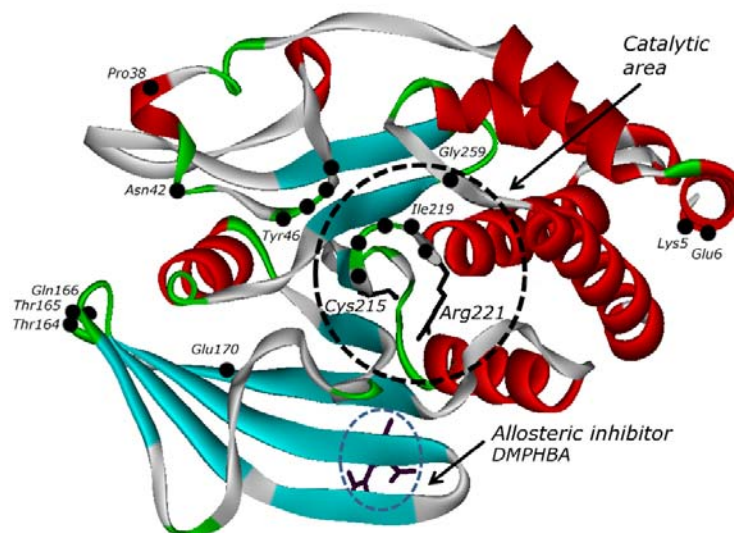


Рисунок 1. Структура комплекса РТР1В с ингибитором РТ00058 с разрешением 1,7 Å. Cα-атомы остатков с существенными сдвигами основной цепи белка показаны черным цветом

1. Zhang Z.Y. Mechanistic studies on protein tyrosine phosphatases // Progr. Nucl. Acid and Mol. Biology, 2003, vol. 73, pp. 171-220.
2. Zhang S., Zhang Z.Y. Mechanistic studies on protein tyrosine phosphatases // Drug Discovery Today, 2007, vol. 12, pp. 373-381.

3. Brandao T.A., Hengge A.C., Johnson S.J. Insights into the reaction of protein-tyrosine phosphatase 1B: crystal structures for transition state analogs of both catalytic steps // J. Biol. Chem., 2010, vol. 21 (285), pp. 15874-15883.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНЫ БИОФИЗИКИ: ТЕОРИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТ Energy Laws of Biophysics: Theory and Experiment

Чукова Ю.П.

Краснопресненский региональный фонд охраны природы и здоровья населения, г. Москва, РФ,
y.chukova@mtu-net.ru

Энергия, как известно, не исчезает и не возникает вновь. Она только переходит из одной формы в другую. Для характеристики успешности этого преобразования исследователи ввели коэффициент полезного действия (КПД), который широко используется для рукотворных устройств и крайне редко для живых объектов. Самым главным видом преобразования энергии живыми системами является преобразование электромагнитного излучения Солнца в свободную энергию, которая используется живым объектом при всех самых разнообразных формах жизнедеятельности. Физический закон эффективности такого преобразования термодинамическим методом был получен в середине XX века [1, 2] и был актуален для солнечных батарей, практическая разработка которых в то время только начиналась. Надо было подождать 10-20 лет, чтобы убедиться в его соответствии эксперименту.

В процессе этого ожидания появилось желание посмотреть, есть ли соответствие полученного физиками результата природным процессам, в результате которых возникла и существует многообразная флора и фауна нашей планеты.

Работа состоит из двух частей. В первой приводятся полученные термодинамическим методом законы зависимости КПД от частоты и спектральной плотности поглощённого излучения. Во второй части представлены те давно и надёжно установленные экспериментальные факты, составляющие основу современной фотобиологии, которые за последние 100-150 лет их изучения не смогла объяснить экспериментальная фотобиология, которая на современном уровне развития представляет собой сумму разделов, никак не связанных между собой (зрение позвоночных, фотосинтез растений и водорослей, фотодвижение простейших организмов и др.) Эта разобщённость понятна, поскольку различны материалы и структуры, в которых протекают соответствующие процессы.

При теоретическом рассмотрении диапазон изменения частоты очень широк (более 20 порядков), а диапазон изменения спектральной плотности излучения ещё шире. В основу рассмотрения положена спектральная плотность излучения потому, что она позволяет легко перейти к любой другой характеристике поглощённого излучения (энергия, мощность, интенсивность) и при необходимости учесть ширину спектрального интервала фоточувствительности процесса.

На основе закона сохранения энергии с учётом формулы Планка получен неожиданный результат. КПД преобразования энергии с изменением величины поглощённой энергии подчиняется двум разным законам. В области высоких частот (область Вина или $h\nu \gg kT$) – это логарифмическая зависимость, а в области низких частот (область Рэлея-Джинса или $h\nu \ll kT$) зависимость подобна ступеньке (закон Девяткова) [1].

Степень экспериментальной изученности процессов в этих двух областях не сравнима. Достоверность результатов в области Рэлея-Джинса недостаточна, поэтому сопоставление теории с экспериментом будет проведено только для области Вина, т.е. в рассмотрение включены давно и надёжно установленные процессы фотобиологии, такие как зрение позвоночных, фотосинтез растений и водорослей, фотодвижение простейших организмов и т.д.

Несмотря на высокую степень изученности (и даже стандартизацию) зрения человека, в этой области знания до сих пор существуют крупные неясности. С середины 19 века по середину 20 века физиологи считали, что главная рабочая характеристика глаза (зависимость от величины воздействующего излучения) описывается законом Вебера-Фехнера, а во второй половине 20 века отдали предпочтение степенной зависимости [3,4]. Эффект Пуркине был открыт в 1823 году, но причины его существования неясны до сих пор. Биологи всего мира несколько десятилетий решают проблему повышения КПД фотосинтеза растений, но безуспешно. Сложные характеристики фотодвижения простейших организмов биологи объяснили только для начального участка. Открытым остаётся вопрос порога всех этих процессов и летального действия УФ-излучения на бактерии.

На все эти вопросы даёт общий ответ закон КПД преобразования энергии электромагнитного излучения в свободную энергию. Знакомство с этим законом позволяет понять связь казалось бы никак не связанных между собой процессов и разумно планировать дальнейшую научную работу.

1. Чукова Ю.П. Введение в квантовую термодинамику необратимых изотермических процессов. М.: Мегapolis, 2018, 480 с.

2. Чукова Ю.П. Эффекты слабых воздействий. Термодинамический, экспериментальный (биологический и медицинский), социальный, законодательный, международный и философский аспекты проблемы. Москва, 2002, 428 с.
3. Чукова Ю.П. Закон Вебера-Фехнера. М.: Гигиена, 2009, 144 с.
4. Чукова Ю.П. О спектральной чувствительности глаза человека // ДАН ССР, 1988, т. 300, № 2, с. 504-507.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ МИКРОДИСПЕРСНОЙ ФАЗЫ ВОДЫ ПРИ ПЕРЕХОДЕ ЕЕ В СОСТОЯНИЕ АКТИВАЦИИ

Study of the Role of Microdispersed Phase of Water During its Transition to Activated State

Яхно Т.А., Яхно В.Г.

Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, РФ, yakhta13@gmail.com

Долгое время исследователи полагали, что лабораторная вода, прошедшая специальную очистку, освобождается от примесей и становится исключительно смесью молекул H_2O , способных объединяться в те или иные молекулярные кластеры с фемтосекундными временами релаксации. Именно эта информация составляла основу для молекулярного моделирования и объяснения известных термодинамических аномалий воды [1-3]. При этом, как правило, не принималось в расчет, что реальная вода всегда содержит микродисперсную фазу [4-6], которая должна являться полноправным участником динамических процессов в этой открытой неравновесной системе. Несмотря на то, что природа микродисперсной фазы в воде высокой степени очистки не нашла однозначного объяснения, существование ее, доказанное разными физическими методами, не вызывает сомнений. В литературе приводится масса способов «активации» воды воздействием на нее различных физических и физико-химических факторов, имеющих, как правило, последствия одинаковой направленности: повышение pH, снижение ОВП, повышение удельной электропроводности [7]. Эти изменения параметров воды релаксируют со временем. Механизм этих изменений обычно объясняется теми или иными гипотетическими изменениями молекулярной структуры воды, вплоть до распада ее на атомы и последующее «восстановление в правильную форму гексаэдра». Однако мощность многих источников, вызывающих активацию воды, явно недостаточна для подобных преобразований. Вопрос остается открытым.

Целью работы являлось выяснение роли агрегатного состояния микродисперсной фазы воды в изменении ряда ее физико-химических показателей. В качестве модифицирующих воздействий использовали механическое возмущение, облучение низкоинтенсивным светом, нагревание и замораживание - оттаивание. Во всех случаях наблюдали обратимые однонаправленные изменения показателей, характерные для активированной воды. Наблюдения под оптическим микроскопом показали, что все виды воздействия на воду (кроме замораживания – оттаивания) сопровождались диссоциацией агрегатов микродисперсной фазы воды и их повторная ассоциация через часы (сутки). Процедура замораживания – оттаивания приводила к снижению концентрации дисперсной фазы в континуальной воде в результате отмешивания части агрегатов (рис. 1).

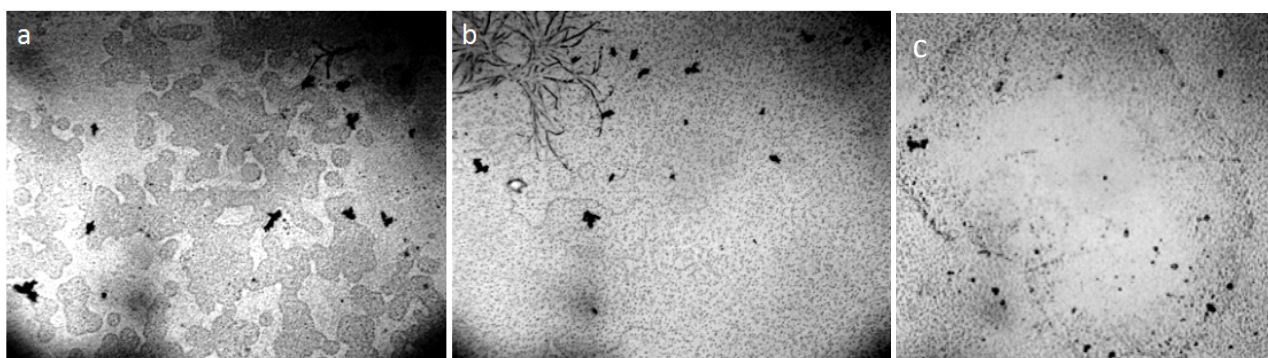


Рисунок 1. Микроскопия тонкого слоя (~8 мкм) дистиллированной воды до замораживания (а) и после замораживания – оттаивания (b); с – сгусток дисперсной фазы в размороженной воде.

Ширина каждого кадра – 3 мм

Обсуждается природа феномена с позиций повышения свободной энергии системы (площади поверхности раздела фаз) под действием вносимой энергии и релаксации воздействия вследствие закона Гиббса. Высказано мнение, что повышение pH и снижение ОВП может быть связано с увеличением площади отрицательно заряженной поверхности и повышением сорбции протонов (ионов гидроксония). Приводится ряд известных аномалий воды, не противоречащих нашим наблюдениям.

1. Маленков Г.Г. Структура и динамика жидкой воды // Журнал структурной химии, 2006, т. 47, приложение S5-S35.
2. Саркисов Г.Н. Структурные модели воды // УФН, 2006, т. 176, № 8, с. 833-845.
3. Мельниченко Н.А. Структура и динамические свойства жидкой воды // Вестник ДВО РАН, 2010, т. 1, с. 65-74.
4. Lo S.Y., Geng X., Gann D. Evidence for the existence of stable-water-clusters at room temperature and normal pressure // Physics Letters A, 2009, pp. 3872-3876, DOI: 10.1016/j.physleta.2009.08.061.
5. Ho M-W. Large Supramolecular Water Clusters Caught on Camera – A Review // WATER, 2013, vol. 12, DOI: 10.14294.WATER.2013.12.
6. Yakhno T., Yakhno V. A study of structural organization of water and aqueous solutions by means of optical microscopy // Crystals, 2019, vol. 9, p. 52, DOI: 10.3390/cryst9010052.
7. Букатый В.И., Нестерюк П.И. Измерение физико-химических характеристик воды при различных физических воздействиях с учетом переходных процессов // Ползуновский вестник, 2010, т. 2, с. 60-65.

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ

МОДЕЛЬ БРОУНОВСКОЙ ДИНАМИКИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛ ЦИТОХРОМА С ВОКРУГ III ДЫХАТЕЛЬНОГО КОМПЛЕКСА В РАСТВОРЕ

Brownian Dynamics Simulation of Cytochrome C Molecules Distribution Around Respiratory Complex III in Solution

Абатурова А.М., Ризниченко Г.Ю.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, abaturova@list.ru

Цитохром с (цитС) в митохондриях при окислительном фосфорилировании переносит электроны от III к IV дыхательному комплексу. Важную роль в связывании белков играют электростатические взаимодействия. Дыхательные комплексы между собой могут образовывать суперкомплексы – респирасомы. В работе [1] был предложен механизм «ограниченного пути диффузии» цитС для переноса электронов между комплексами III и IV, что должно повышать эффективность транспорта и снижать выработку активных форм кислорода. Экспериментальное исследование этого процесса затруднено.

Мы построили модель броуновской динамики диффузии цитС и димера III комплекса в растворе с помощью ProKSim [2]. Мы использовали PDB структуры комплекса III₂, выделенного из митохондрий быка 1BGY и цитС из митохондрий лошади 3O1Y. В модели белки рассматриваются как жесткие твердые тела, учитывается их поступательное и вращательное движение и электростатические взаимодействия. Заряды на белках рассчитывались с помощью силового поля CHARMM27, дополненного параметрами для гема [3] и железо-серного кластера [4]. В модели использовали pH 7, физиологическое значение ионной силы 130 mM.

В программе записывались положения цитС, если расстояние между его атомом Fe и Fe в редокс центре цитохрома c1 субъединицы D комплекса III₂ было менее 50 Å. Всего было записано 324362 положений. Полученные положения атома Fe в цитС мы нанесли на сетку с шагом 5 Å и просуммировали количество попаданий атома Fe в каждую ячейку.

Проведенные исследования показали, что место, в котором цитС проводит 50% времени, занимают 18% пространства, доступного для диффузии. Эта область имеет размеры 80x70Å и расположена параллельно поверхности мембраны, в которой в митохондриях расположен III комплекс. Минимальное расстояние между поверхностью молекул цитС в положениях, в которых они проводят 50% времени, и поверхностью III комплекса составило 10-20Å.

Таким образом, согласно модели, цитС находится в электростатически выгодной области около III дыхательного комплекса, где свободно диффундирует, что согласуется с работой [1]. Добавление в нашу модель дыхательного комплекса IV позволит изучить влияние структуры респирасомы на эффективность транспорта электрона между III и IV дыхательными комплексами.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова, при поддержке РФФИ, проект № 19-04-00999.

1. Pérez-Mejías G., Guerra-Castellano A., Díaz-Quintana A., De la Rosa M.A., Díaz-Moreno I. Cytochrome c: Surfing Off of the Mitochondrial Membrane on the Tops of Complexes III and IV // Computational and Structural Biotechnology Journal, 2019, vol. 17, DOI: 10.1016/j.csbj.2019.05.002.

2. Хрущев С.С., Абатурова А.М., Дьяконова А.Н. и др. Моделирование белок-белковых взаимодействий с применением программного комплекса многочастичной броуновской динамики ProKSim // Компьют. исслед. и моделирование, 2013, т. 5, DOI: 10.20537/2076-7633-2013-5-1-47-64.

3. Autenrieth F., Tajkhorshid E., Baudry J. et al. Classical force field parameters for the heme prosthetic group of cytochrome c // J. Comput. Chem., 2004, vol. 25, DOI: 10.1002/jcc.20079.

4. Chang C.H., Kim K. Density functional theory calculation of bonding and charge parameters for molecular dynamics studies on [FeFe] hydrogenases // J. Chem. Theory Comput., 2009, vol. 5, pp. 1137-1145.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ α -S1-КАЗОМОРФИНА Spatial Structure of the α -S1-Casomorphin Molecule

Агаева Л.Н., Абдинова А.А., Ахмедова С.Р., Ахмедов Н.Ф., Ахмедов Н.А.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, *Namiq.49@bk.ru*

Азербайджанский государственный педагогический университет, г. Баку, Азербайджан

Азербайджанский технический университет, г. Баку, Азербайджан

Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладает опиоидоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Первые известные экзорфины были получены при пепсиновом гидролизе α -казеина и пшеничного глютена *in vitro*. В этой же работе доказано устойчивость экзорфинов к действию ферментов поджелудочной железы и подтверждена опиоидная активность этих пептидов *ex vivo*. Оказалось, что опиоидоподобные производные казеина и глютена тормозят активность аденилатциклазы в культуре клеток, ингибируют сокращения семявыносящего протока мыши, а также вытесняют агонисты опиоидных рецепторов, помеченные радиоактивной меткой, из мест связывания на срезах головного мозга крысы. Среди экзорфинов животного происхождения лучше всего исследованы производные молочных белков. Наиболее известны молочные экзорфины – β -казоморфины-4,-5,-6,-7 продукты ферментативного гидролиза β -казеина коровьего молока, впервые выделенные и описанные. Аналогичные пептиды в составе молекулы β -казеина были позднее обнаружены в молоке других видов млекопитающих, включая и человека. Из других молочных белков также выделены экзорфины, но они изучены существенно хуже производных β -казеина и в основном имеют средство к опиоидным рецепторам. Из α -казеина женского молока был выделен пентапептид α -S1-казоморфин. Интересно, что этот пептид обладает способностью подавлять пролиферацию клеток опухоли молочной железы. Физиологическое действие антагонистических экзорфинов до сих пор изучено очень слабо [1].

Для нахождения пространственного строения пептидной молекулы использовался метод теоретического конформационного анализа, позволяющий рассчитывать трехмерную структуру биомолекул исходя из известной аминокислотной последовательности. Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учетом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Невалентные взаимодействия были оценены по потенциалу Леннарда-Джонса. Электростатические взаимодействия рассчитывались в монопольном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности данной молекулы изучены в условиях водного окружения, в связи с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе.

Трехмерная структура молекулы α -S1-казоморфин (Tyr1-Val2-Pro3-Phe4-Pro5-NH₂) была исследована на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между конформациями, формами основных цепей и шейпами. В энергетический интервал 0-16.0 кДж/моль попадают конформации четырех шейпов. В этой интервал попадают конформации форм основной цепи BBRBB, BBBB, RBRBB, RBVVV.

Таким образом, пространственную структуру молекулы α -S1-казоморфина можно представить четырьмя структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах. На основе полученных трехмерных структур, можно предложить для данной молекулы ее синтетические аналоги. Теоретический конформационный анализ гептапептидной молекулы α -S1-казоморфин привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

1. Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Каменский А.А. Опиоидные пептиды, получаемые с пищей и их влияние на нервную систему // Успехи физиологических наук, 2015, т. 46, № 1, с. 22-46.

ПРИМЕНЕНИЕ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ АПТАМЕРОВ

Revealing the 3D Structure of Aptamers Using Quantum Chemical Methods

Артюшенко П.В.^{1,2,3}, Щугорева И.А.^{3,4}

¹ Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, РФ, art_polly@mail.ru

² Международный научный центр исследований экстремальных состояний организма ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ

³ Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ

⁴ Лаборатория Цифровых управляемых лекарств и тераностики ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ

В работе осуществляется поиск третичной структуры аптамера LC-18t (t-truncated), состоящего из 35 нуклеотидов 5'-CGAACGCGAG TTGAGTTCCG AGAGCTCCGA СТТСТ-3'. Аптамер был отобран и использован для специфического связывания с клетками аденокарциномы лёгкого и плазмой крови больных. Экспериментально структура аптамера LC-18t была исследована с помощью малоуглового рентгеновского рассеивания (МУРР). Метод позволяет получить форму молекул, находящихся в растворе, но не даёт детального описания третичной структуры. С помощью сервера OligoAnalyzer 3.1 был выполнен поиск возможных вторичных структур при следующих условиях: содержание ионов Na^+ 146 мМ и ионов Mg^{2+} 0,5 мМ, при температурах 5° и 25°. Для моделирования 3D-структуры аптамеров были выбраны три структуры, предложенные сервером OligoAnalyzer (рис. 1).

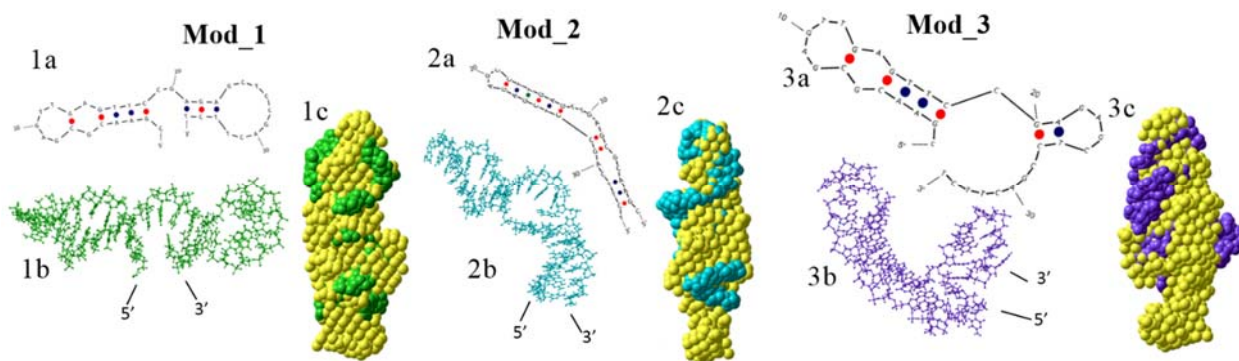


Рисунок 1. 1a, 2a, 3a – варианты вторичной структуры аптамера LC-18t, смоделированные с помощью сервера OligoAnalyzer 3.1; 1b, 2b, 3b – соответствующие трёхмерные структуры аптамера; 1c, 2c, 3c – сравнение трёхмерной структуры аптамеров с формой аптамера, полученной с помощью малоуглового рассеивания. Экспериментально полученная форма аптамера показана шариковой моделью жёлтого цвета, зелёным, голубым и фиолетовым цветом выделены трёхмерные структуры моделей Mod_1, Mod_2 и Mod_3 соответственно

Для компьютерного моделирования трёхмерной структуры аптамеров использовалась программа – молекулярный редактор Avogadro. Оптимизация геометрии трёх укороченных аптамеров LC-18t выполнялась в программе для квантово-химических расчётов GAMESS с применением метода функционала плотности в приближении сильной связи DFTB3 и метода фрагментации молекулярных орбиталей. Для учёта растворителя использовалась модель поляризуемого континуума (Polarized Continuum Model, или PCM). Сравнение энергетических характеристик трёх моделей LC-18t показало, что Mod_1 и Mod_2, имеют близкие значения полной энергии: разница между конформерами составила всего 14 кДж/моль, в то время как структура Mod_3, предложенная OligoAnalyzer 3.1 как наиболее вероятная, имеет более высокую энергию, что говорит о её меньшей устойчивости. Оптимизированные структуры смоделированных аптамеров LC-18t сравнивались с формами моделей, построенных на основе данных МУРР. Сравнение форм смоделированных аптамеров с данными эксперимента показало, что структура Mod_3 и Mod_2 гораздо хуже вписываются в форму, установленную МУРР, в то время как структура Mod_1 показывает довольно высокое совпадение с экспериментальной формой. Для изучения механизма связывания аптамера с целевым белком необходимо моделирование и квантово-химический расчёт свойств комплекса аптамер-белок, что позволит определить сайты связывания и описать природу связывания аптамера с мишенью.

**МОДЕЛИРОВАНИЕ КИНЕТИКИ НАКОПЛЕНИЯ ЗАРЯЖЕННЫХ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ В РАЗНЫХ ЗОНАХ ОПУХОЛЕЙ С УЧЁТОМ ИЗМЕНЕНИЯ
ГРАДИЕНТОВ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ НА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАНАХ**
**Modeling the Accumulation Kinetics of Charged Photosensitizers in Various Tumors Zones on the Background
of Electric Field Gradients Changes on Cell Membranes**

Аскарова К.З., Морозова Г.И., Умнов А.М.

Российский университет дружбы народов, г. Москва, РФ, *kamilaska24@gmail.com, gimorozova@mail.ru*

В последние годы быстрыми темпами развивается метод фотодинамической терапии опухолей (ФДТ), основанный на применении люминесцентных фотосенсибилизаторов (ФС). Необходимым условием для эффективности ФДТ является накопление ФС преимущественно в опухолевых клетках (ОК). Последнее зависит как от физико-химических свойств молекул выбранного ФС (липофильности, заряда), так и от метаболического состояния ОК [1], сопряженного с их митотическим циклом и уровнем оксигенации [2,3]. Последнее существенно влияет на скорость деления ОК. В рамках биофизического подхода гетерогенность ОК в разных зонах опухоли может быть охарактеризована по уровням трёх электрических трансмембранных потенциалов (ТМП): отрицательных - на плазматической, митохондриальных мембранах и положительного - на ядерной мембранах [3-5]. Кинетика проникновения через мембраны заряженных ФС и их равновесное накопление в клеточных отсеках зависит от величины и знака ТМП на мембранах клеток, различающихся в разных зонах опухоли. В частности, это важно учитывать для прогноза эффективности ФДТ при использовании заряженных ФС хлоринового ряда, наиболее популярных в силу их наименьшей токсичности для нормальных клеток [1]. Основной целью данной работы является моделирование кинетики накопления двух хлориновых ФС при постоянных и переменных градиентах электрических полей трёх мембран в клетках. Ранее в рамках кинетической модели с постоянными ТМП получены стационарные решения для распределения концентраций анионных ФС в клеточных отсеках при различных энергетических состояниях клеток [5]. В данной работе на основе экспериментальных кинетических кривых - роста интенсивности флуоресценции опухолевых клеток в культуре HT29, инкубированных с хлорином Е6 или с его производным - диметилловым эфиром Е6 (ДМЭ) [1], оценены константы скоростей переноса ДМЭ и Хл.Е6 в ОК по наклонам линейной части этих кривых. Кинетическая модель представлена в виде системы 4-х нелинейных дифференциальных уравнений, в которые входят переменные константы скоростей переноса молекул ФС через три мембраны, образующие замкнутые последовательно-параллельные ячейки. В нашей модели эти константы зависят от ТМП-ов в митохондриях и ядрах, которые изменяются экспоненциально с заданными модулирующими параметрами α и β соответственно; при этом ТМП на внешней мембране считаем постоянным в пределах времени эксперимента. На основе этих уравнений, проведен вычислительный эксперимент с помощью специальной программы. Получены теоретические кинетические кривые изменения количества ФС-хлоринов в цитоплазме, митохондриях и ядрах ОК, которые оказались корректны в первые 10 минут их аккумуляции при выбранных параметрах модуляции α и β . Из полученных результатов следует, что ДМЭ может эффективнее проникать в опухоль в зоне клеток с более активными митохондриями (по градиенту отрицательных полей) благодаря наличию слабого положительного заряда в его молекулах. Можно предполагать, что эффективному накоплению заряженных ФС должен соответствовать некоторый оптимальный характер взаимоотношений переменных градиентов электрических полей на митохондриальной и ядерной мембранах во времени.

1. Зорина Т.Е., Янковский И.В., Зорин В.П. Внутриклеточная локализация и накопление этерифицированных производных Е6 // Медико-биологические основы жизнедеятельности, Минск: 2012, с. 153-155.
2. Колобов А.В., Анашкина А.А., Губернов В.В., Полежаев А.А. Математическая модель роста опухоли с учётом дихотомии миграции и пролиферации // Компьютерные исследования и моделирование, 2009, т. 1, № 4, с. 415-422.
3. Тарнопольская О. В., Непомнящая Е. М., Бирбраер В. М., Тюрбеева М. Л., Макарова Е. И. Средний мембранный потенциал клеток опухолей пяти гистотипов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2014, № 10, с. 108-109.
4. Морозова Г.И., Полетаев А.И., Борщевская Т.А. Инвертированный электрохимический потенциал на ядерной мембране клеток и его связь с клеточной энергетикой // Труды 2-го съезда биофизиков России, 1999, с. 256-257.
5. Askarova K.Z., Morozova G.I., Anoshin A.A. Modeling the Accumulation Kinetics of Anionic Photo-sensitizers in Tumor Cells with Different Trans-membrane Potentials // J. Mech. Cont. & Math. Sci., Special Issue-1, March, 2019, pp. 483-490.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОАКТИВНОЙ КОНФОРМАЦИИ ВИЛОНА Insights into Bioactive Conformation of Vilon

Ахвердиева Г.А., Демухамедова С.Д., Годжаев Н.М.

Институт физических проблем, Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан,
hagverdighulnara@gmail.com

Тимомиметик вилон (Lys-Glu), являющийся структурным элементом многих гормонов тимуса, был сконструирован на основе статистического анализа аминокислотного состава препарата тималин [1]. Полученные данные указывают на безопасность и эффективность применения данного пептида для коррекции возрастных нарушений ангиогенеза и иммуногенеза, а также для модулирования пролиферации клеток и ингибирования канцерогенеза [2].

Чтобы понять механизм действия исследуемого препарата, необходимо изучить его структурные и электронные особенности, важные для взаимодействия со специфическим рецептором. В представленной работе приведены результаты исследования вилон методами молекулярного моделирования [3]. Конформационные профили указанного дипептида исследованы в рамках молекулярной механики, электронные характеристики проанализированы с помощью квантово-химических расчетов. Рассчитаны энергетические и геометрические параметры, эффективные заряды атомов, коэффициенты заселенности атомных орбиталей, дипольный момент, энергии высшей занятой молекулярной орбитали и низшей свободной молекулярной орбитали, ширина энергетической щели, контуры и карты электростатического потенциала устойчивых состояний исследованной молекулы. Массивность боковых цепей составляющих данную последовательность аминокислотных остатков, а также наличие четырех заряженных групп (N- и C-концевые противоположно заряженные группы атомов молекулы и противоположно заряженные боковые цепи остатков лизина и глутаминовой кислоты) являются важными факторами, формирующими стабилизирующие силы: дисперсионные взаимодействия боковых цепей аминокислотных остатков и электростатические взаимодействия ионогенных групп. Поэтому энергия дипептида очень чувствительна к положениям боковых цепей аминокислотных остатков. В оптимальной свернутой конформации молекулы с $E_{\text{отн.}} = 0,0$ ккал/моль формируются водородные связи между атомом водорода аминогруппы боковой цепи Lys и атомом кислорода карбоксильной группы боковой цепи Glu ($d = 2,22 \text{ \AA}$, $E = -0,73$ ккал/моль), а также между водородом, связанным пептидной связью с атомом азота основной цепи Glu, и двумя атомами кислорода C-концевой группы ($d = 2,38 \text{ \AA}$, $E = -0,48$ ккал/моль; $d = 2,38 \text{ \AA}$, $E = -0,48$ ккал/моль). В оптимальной развернутой конформации молекулы с $E_{\text{отн.}} = 0,6$ ккал/моль формируются водородные связи между водородами концевой аминогруппы и кислородом, связанным пептидной связью с углеродом основной цепи Lys ($d = 2,86 \text{ \AA}$, $E = -0,12$ ккал/моль; $d = 2,31 \text{ \AA}$, $E = -0,57$ ккал/моль). Отметим, что в свернутой конформации боковые цепи остатков взаимодействуют более эффективно, чем в развернутой, что приводит к формированию солевого мостика ($3,0 \text{ \AA}$) между атомом азота аминогруппы боковой цепи Lys и атомами кислорода карбоксильной группы боковой цепи Glu. Установлено, что свернутая конформация исследуемого дипептида более устойчива также по электронным параметрам: сворачивание пептидной цепи приводит к увеличению энергетической щели на $1,71 \text{ эВ}$ и уменьшению дипольного момента на 12 Дб . На последующем этапе был проведен молекулярный докинг вилон со специфическим T-клеточным рецептором. Показано, что свернутая конформация лиганда хорошо дополняет расщелину на поверхности рецептора, являющегося местом связывания. Полученные данные позволили нам оценить свернутую структуру как биоактивную конформацию вилон. Результаты проведенного исследования обеспечивают улучшенное описание структурно-функциональных отношений вилон.

1. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. Пептидные биорегуляторы и старение. СПб.: Наука, 2003, 223 с.

2. Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Ryzhak G.A., Peptide Bioregulators: A New Class of Geroprotectors, Report 2. The Results of Clinical Trials // Advances in Gerontology, 2014, vol. 4, № 4, pp. 346-361.

3. Akverdieva G.A. Demukhamedova S.D., Godjaye N.M. Theoretical study of thymomimetic peptide H-Lys-Glu-OH (Vilon) and its complex with the receptor // Conference proceedings "Modern Trends in Physics", Baku 01-03 May, 2019, ISSN 2522-4352, pp. 165-169.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ СОЙМОРФИНА-7 Spatial Structure of the Soymorphin-7 Molecule

Ахмедов Н.А., Агаева Л.Н., Гаджиева Ш.Н., Аббаслы Р.М., Исмаилова Л.И.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан,
Namiq.49@bk.ru

Регуляторные пептиды, впервые обнаруженные во второй половине XX века, активно изучаются как физиологами, так и фармакологами, поскольку область биологической активности пептидов чрезвычайно широка. Они являются одним из главных звеньев, объединяющих три регуляторные системы организма – нервную, эндокринную и иммунную в единое целое. Опиоидные пептиды в настоящее время считаются наиболее изученной группой сигнальных веществ пептидной природы. Опиоидные пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Экзорфины выделены из различных видов растений. Сойморфины-5, -6 и -7, производные β -коглицинина сои, были обнаружены сравнительно недавно. Сойморфины в заметных количествах образуются при переваривании сои: при расщеплении β -субъединицы β -коглицинина сои панкреатической эластазой *in vitro* сойморфин-5 составляет 9,1 % всех продуктов. Интересно, что сойморфины – первые известные экзорфины растительного происхождения, являющиеся селективными лигандами μ -рецепторов. Опыты на препаратах подвздошной кишки морской свинки показали, что сойморфины даже в большей степени μ -селективны, чем β -казоморфины. Возможное нейротропное действие сойморфинов важно исследовать в связи с тем, что соевый белок широко используется в пищевой промышленности [1].

Нами были исследованы структурно-функциональные организации ряда опиоидных пептидов, и эта работа является продолжением наших предыдущих исследований. Расчет молекул выполнен с помощью метода теоретического конформационного анализа. Потенциальная функция системы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Невалентные взаимодействия были оценены по потенциалу Леннарда-Джонса. Электростатические взаимодействия рассчитывались в монопольном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности молекул экзорфинов изучены в условиях водного окружения, в связи с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе.

Трехмерная структура молекулы сойморфина-7 (Tyr1-Pro2-Tyr3-Val4-Val5-Asn6-Ala7-NH₂) была исследована фрагментарно. Сначала, на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков изучена пространственная структура пентапептидной молекулы сойморфина-5 и определены ее стабильные конформации. На втором этапе, на основе низкоэнергетических конформаций молекулы сойморфина-5 и аминокислотного остатка Asn6 была рассчитана пространственная структура сойморфина-6. На третьем этапе, на основе оптимальных конформаций сойморфина-6 и аминокислотного остатка Ala7 исследована трехмерная структура сойморфина-7. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между конформациями, формами основных цепей и шейпами. В энергетический интервал 0–43.0 кДж/моль попадают конформации восьми шейпов.

Таким образом, пространственную структуру молекулы сойморфина-7 можно представить восемью структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах. На основе полученных трехмерных структур, можно предложить для данной молекулы ее синтетические аналоги. Теоретический конформационный анализ гептапептидной молекулы сойморфина-7 привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

1. Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Каменский А.А. Опиоидные пептиды, получаемые с пищей и их влияние на нервную систему // Успехи физиологических наук, 2015, т. 46, № 1, с. 22–46.

ПОСТРОЕНИЕ СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ИК СПЕКТРОВ ТРИФЕНИЛФОСФИТА

Structural-dynamic Models and Interpretation of IR Spectra of Triphenylphosphite

Бабков Л. М., Давыдова Н.А., Ивлиева (Перетоккина) И.В.

Саратовский государственный университет, г. Саратов, РФ, imbabkov@gmail.com

Институт физики НАН Украины, г. Киев, Украина, davydova@iop.kiev.ua

Трифенилфосфит ($P(OC_6H_5)_3$, сокращённо – ТФФ) – биологический объект, используемый в качестве пестицида – обладает набором уникальных свойств, благодаря которым он продолжает вызывать интерес к себе. В нашей работе были исследованы структура и свойств ТФФ методами колебательной ИК спектроскопии. Исследование ИК спектров ТФФ позволяют установить в нём фундаментальную связь "спектр-структура-свойства".

Изменение конформации молекулы и водородная связь непосредственным образом влияют на ИК спектр образца ТФФ. Его структура в кристаллическом, аморфном, "глассиал" и жидком состояниях исследовалась в [1], конформационная мобильность исследовалась в работе [2]. Авторы [2] констатируют наличие слабой водородной связи ($C-H \cdots O$), возникающей за счёт обобществления атома водорода между атомами углерода фенильного кольца одной молекулы и кислорода фрагмента $P(O-C)_3$ – другой. Благодаря этой связи молекулы в образце ТФФ могут объединяться в димеры и тримеры.

Особенности строения ТФФ, связанные с наличием устойчивых конформаций и водородных связей, на которые указано в [1] и [2], не могут не проявиться в его ИК спектрах. На основе результатов молекулярного моделирования для трёх устойчивых конформеров и димера были интерпретированы спектры ТФФ, измеренные в пяти фазовых состояниях: в жидкости, стеклофазе, "глассиал" и ТК, стабильном и метастабильном. В данной работе предложена полная интерпретация измеренных ИК спектров ТФФ на основе результатов построения его структурно-динамических моделей и детального колебательного анализа его спектров.

Вычислены параметры адиабатических потенциалов конформеров и димера: минимумы энергий, оптимизированные геометрии, силовые постоянные и дипольные моменты, использованные при решении механической и электрооптической задач. Рассчитаны частоты и формы нормальных колебаний в гармоническом приближении и их интенсивности в ИК спектре.

Энергии конформеров составили -1261,991493 (I), -1262,007903 (II), -1262,005736 (III) Хартри. Близость значений энергий конформеров указывает на равную вероятность их реализации в образце. Энергия димера составила -2523,985059 Хартри. Отличие вычисленных длин связей от экспериментальных не превышает 2,5% и обусловлено, отчасти, ограниченностью модели изолированной молекулы. Энергия водородной связи в ДІV составляет 1,3 ккал/моль, что позволяет отнести её к слабому типу. Её влияние на геометрию молекул ТФФ, образующих димер, не велико и сказывается лишь на окрестности водородного мостика, длина которого составляет 2,963 Å. Дипольные моменты конформеров равны 1,14, 2,03, 1,15 D. Разница между ними не выходит за пределы 0,88 D. Дипольный момент димера равен 4,5 D, что на 3,36 D больше дипольного момента KI.

Согласие спектров в целом можно считать удовлетворительным, учитывая, что расчёт был проведён для изолированной молекулы в рамках гармонического приближения. Имеет место характеристичность фундаментальных колебаний фенильных колец по частоте, форме и смещениям, типичная для монозамещённых бензола.

Установлено, что конформеры ТФФ спектрально различимы. Конформационная подвижность влияет на формирование полос ИКС образца в областях 700-750, 860-880, 1180-1220 cm^{-1} , соответствующих колебаниям группы атомов $P(OC)_3$, являющихся спектрально-структурными признаками ТФФ. Структура этих полос – сложная.

Наибольший интерес с точки зрения влияния Н-связи на ИК спектр ТФФ представляет область 3000-3100 cm^{-1} . Установлено, что образование димера сопровождается небольшим сдвигом частоты валентного колебания в низкочастотную сторону и к возрастанию его интенсивности более, чем в пять раз. Частоты и интенсивности других валентных колебаний связей С-Н изменяются в меньшей степени.

В состояниях "глассиал", стеклофазы и жидкости и при различных температурах вполне вероятна реализация в образце ТФФ трёх конформеров и их Н-комплексов, динамика которых формирует ИК спектры образца.

Наличие полос в областях 1730-1900 и 2830-3000 cm^{-1} измеренного ИК спектра есть следствие механического ангармонизма колебаний. Их пики соответствуют обертонам и составным колебаниям конформеров I, II, III и димера IV.

1. Mei Q., Ghalsasi P., Benmore C. J., Yarger. J.L. The Local Structure of Triphenyl Phosphite Studied Using Spallation Neutron and High-Energy X-ray Diffraction // J. Phys. Chem. B., 2004, vol. 108, pp. 20076-20082.

2. Hernandez O., Boucekkine A., Hedoux. A. A Density Functional Theory Study of Triphenyl Phosphite: Molecular Flexibility and Weak Intermolecular Hydrogen Bonding // J. Phys. Chem. A, 2007, vol. 111, pp. 6952-6958.

ВКЛЮЧЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ STATE TRANSITION ПРИ ОПИСАНИИ В МОДЕЛИ ТИЛАКОИДА СТАДИЙ НАРАСТАНИЯ И СПАДА СИГНАЛОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ, ХАРАКТЕРНЫХ ДЛЯ ВОДОРΟΣЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ**State Transition Regulation in the Thylakoid Model Simulating Fluorescence Induction at the Rise and Decay Stages Observed on Algae and Cyanobacteria**

Беляева Н.Е., Булычев А.А., Клементьев К.Е., Пашенко В.З., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, natalmurav@yandex.ru

В процессах выделения кислорода природным фитопланктоном участвуют одноклеточные микроводоросли (эукариоты) и цианобактерии (прокариоты). Состояние компонент фитопланктона необходимо изучать для понимания состояния экологически полноценных или деградирующих водоемов. Для применения в исследованиях математических методов важны результаты анализа отдельных таксономических групп одноклеточных окисленных организмов, изученных в лабораторных условиях [1-4]. Замкнутая система тилакоидных мембран (ТМ) работает как в хлоропластах (листья, водоросли), так и в цитозоле цианобактериальных клеток [1]. Метаболизм митохондрий косвенно влияет на процессы в электронно-транспортной цепи (ЭТЦ) у водорослей [1, 2]. Цианобактериальные ТМ, разделяя люмен / цитоплазму, обеспечивают и фотосинтетический и респираторный электронный транспорт, которые взаимосвязаны при участии в процессах притока и оттока электронов в пул пластохинонов / хинолов (PQ/PQH₂) [1, 3, 4].

Для перехода системы ТМ от темноты к свету важно согласование фотосистем 2 и 1 (ФС 2 и ФС 1). Особенности регуляции световой индукции определены структурой светособирающих антенных комплексов реакционных центров (РЦ) ФС 2 и ФС 1: У цианобактерий роль антенн выполняют фикобилисомы (ФБС), расположенные на внешней стороне ТМ; у водорослей антенны подвижны и погружены в фазу ТМ. Динамика индуцированных светом ОЛPSMT изменений флуоресценции (ФЛ) *in vivo* исследована нами для двух образцов: 1) клетки цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*Synechocystis*); 2) микроводоросль *Scenedesmus obliquus* (*Scenedesmus*). Модель «Тилакоид» [5] отлажена с целью количественного описания кривых индукции ФЛ (ИФ) *Synechocystis* и *Scenedesmus*. Световые ответы образцов рассчитывали на стадиях быстрого ОЛП нарастания ФЛ до Р пика ($t < 1$ с) с последующей медленной (секунды - минуты) волной PSMT спада переменной ФЛ. Для водоросли как и цианобактерии, получено описание процессов на временной шкале от микросекунд до 5-10 минут. При нахождении параметров модели «Тилакоид» использовано упрощенное экспоненциальное описание эффекта State transition. Согласно моделированию ИФ у *Synechocystis*, ФБС антенны при освещении мобильны, приводя к регуляции «State transition» в переходах 1→2 и 2→1 [4, 6]. В расчетах ИФ *Scenedesmus* показано, что «включение» State transition 2→1 приводит к SM возрастанию на 2-3 минутах кинетического хода ИФ.

В расчетах ИФ *Synechocystis* и *Scenedesmus* при формировании быстрого ОЛП паттерна максимально восстановлены редокс кофакторы ЭТЦ в условиях индуцированного светом перераспределения зарядов в компартментах люмена и стромы [5]. Заполнение и отток электронов в пулах переносчиков после ФС 2 и 1 дают вклады на медленной PSMT волне [5]. Для баланса фотосистем важна регуляция при активации линейного оттока электронов путем световой активации ферредоксин –НАДФ редуктазы, но qE зависимое тушение вызывается закислением люмена только для водоросли и не действует для *Synechocystis*.

Далее в модели «Тилакоид» возможны исследования молекулярных механизмов регуляции переходов State transitions 1→2 и 2→1 через редокс состояние PQ пула, как эффекта, который изучен для листьев, водорослей и предполагается для цианобактерий [1-4, 6].

Работа выполнена при частичной поддержке фондов РФФИ №20-04-00465 и РНФ №20-64-46018.

1. Mullineaux C.W. Co-existence of photosynthetic and respiratory activities in cyanobacterial thylakoid membranes // BBA, 2014, vol. 1837, pp. 503-511.

2. Kodru S., Malavath T., Devadasu E., Nellaepalli S., Stirbet A., Subramanyam R., Govindjee. The slow S to M rise of chlorophyll a fluorescence induction reflects transition from state 2 to state 1 in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // Photosynth. Res., 2015, vol. 125 (1-2), pp. 219-231.

3. Bulychiev A., Cherkashin A., Muronets E., Elanskaya I. Photoinduction of electron transport on the acceptor side of PSI in *Synechocystis* PCC 6803 mutant deficient in flavodiiron proteins Flv1 and Flv3 // BBA, 2018. vol. 1859, p. 1086.

4. Bernát G., Steinbach G., Kaňa R., Govindjee, Misra A., Prašil O. On the origin of the slow M–T chlorophyll a fluorescence decline in cyanobacteria: interplay of short-term light-responses // Photosynth. Res., 2018, vol. 136, p. 183.

5. Belyaeva N.E., Bulychiev A.A., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B. Thylakoid membrane model of the Chl a fluorescence transient and P700 induction kinetics in plant leaves // Photosynth. Res., 2016, vol. 130, pp. 491-515.

6. Papageorgiou G.C., Govindjee. The non-photochemical quenching of the electronically excited state of chlorophyll a in plants: definitions, timelines, viewpoints, open questions. In: Demmig-Adams B, Garab G, Adams WWI, Govindjee (eds) Nonphotochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria // Advances in photosynthesis and respiration, 2014, vol. 40, pp. 1-44.

МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ФИБРИЛЛОБРАЗУЮЩИХ ПЕПТИДОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В УСИЛЕНИИ АКТИВНОСТИ ВИЧ
Modeling the Complexation of Fibril-forming Peptides Involved in Enhancing HIV Activity

Блохин Д.С., Бикмуллин А.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ, dblohin@kpfu.ru

Несмотря на активное распространение и заражение ВИЧ (вирус иммунодефицита человека), сам вирус не обладает большой активностью в лабораторных условиях, и лишь небольшой процент (0,1-0,001%) вирионов способны к репликации *in vitro* [1,2]. Учитывая эти факты, причину высокой инфекционной активности ВИЧ следует искать в его окружении. Распространение ВИЧ-инфекции связано, главным образом, с незащищенными половыми актами. Исходя из этого, семенная жидкость является естественным местом для поиска факторов, усиливающих активность ВИЧ.

Около пятнадцати лет назад при поиске факторов спермы, которые модулируют инфекцию ВИЧ, было продемонстрировано, что сперма содержит амилоидные фибриллы, способные заметно увеличивать уровень ВИЧ-инфекции. Первоначальное открытие факта, содержания в сперме амилоид-образующих пептидов, которые повышают инфекционность ВИЧ, было сделано довольно случайно. Чтобы обнаружить молекулы в сперме человека, модулирующие ВИЧ-инфекцию, Munch et al. проанализировали библиотеку пептидов и белков, полученных из человеческой спермы [3].

Был выявлен ряд небольших пептидных фрагментов белков PAP (фосфатаза простатической кислоты), семеногелина 1 (SEM1) и семеногелина 2 (SEM2) [4]. Обнаруженные пептиды обладают способностью к полимеризации в амилоидные фибриллы PAP и SEM, усиливающие вирусную инфекцию [3-5].

Полимеризованные фибриллы PAP и SEM при нейтральном pH являются сильными катионами. Эти свойства позволяют фибриллам связываться с отрицательно заряженными мембранами как вирионов, так и клеток ВИЧ, что приводит к усилению прикрепления вируса и его слияния с клетками-мишенями [3,4]. Таким образом, полученные из PAP и SEM фибриллы увеличивают эффективность связывания вируса и клетки-мишени, образуя, своего рода, электростатический мостик, между отрицательно заряженными и отталкивающимися друг от друга вирусной и клеточной поверхностями мембран [6].

Амилоидные фибриллы спермы, на сегодняшний день, активно изучаются. Тем не менее, некоторые вопросы относительно их структуры и функций в сперме остаются без ответа. На данный момент не установлена молекулярная структура фибрилл PAP и SEM, точный механизм взаимодействия фибрилл с вирионами и клетками. Целью настоящей работы являлось моделирование амилоидные фибриллы PAP и SEM методами молекулярной динамики. Полученные данные в дальнейшем позволят произвести анализ формирования комплекса вириона вируса ВИЧ с амилоидными фибриллами спермы. Моделирование проводилось с помощью программного пакета GROMACS [7].

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук МК-938.2020.4.

1. Dimitrov D.S. et al. Quantitation of human immunodeficiency virus type 1 infection kinetics // J. Virol., 1993. Vol. 67 (4), pp. 2182-2190.
2. Rusert P. et al. Quantification of infectious HIV-1 plasma viral load using a boosted in vitro infection protocol // Virology, 2004, vol. 326 (1), pp. 113-129.
3. Munch J. et al. Semen-derived amyloid fibrils drastically enhance HIV infection // Cell, 2007, vol. 131 (6), pp. 1059-1071.
4. Roan N.R. et al. Peptides released by physiological cleavage of semen coagulum proteins form amyloids that enhance HIV infection // Cell Host Microbe, 2011, vol. 10, pp. 541-550.
5. Roan N.R. et al. Liquefaction of Semen Generates and Later Degrades a Conserved Semenogelin Peptide That Enhances HIV Infection // J. Virol., 2014, vol. 88, pp. 7221-7234.
6. Meier C., Weil T., Kirchhoff F., Munch J. Peptide nanofibrils as enhancers of retroviral gene transfer, Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol., 2014, vol. 6, pp. 438-451.
7. French K.C., Roan N.R., Makhatadze G.I. Structural characterization of semen coagulum-derived SEM1(86-107) amyloid fibrils that enhance HIV-1 infection // Biochemistry, 2014, vol. 53, pp. 3267-3277.

СПЕЦИФИКА ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ ОБОЛОЧКИ ПОТЕКСВИРУСОВ

Pecularity of the Potexvirus Coat Protein Spatial Structure

Богачева Е.Н.¹, Долгов А.А.¹, Ксенофонов А.Л.²

¹ ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, *bogen_chph@mail.ru*

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, *ksenofon@belozersky.msu.ru*

Изучение структуры вирусных белков оболочки, а также возможностей их модификации и структурной перестройки актуально для нанобиотехнологии. Вирусы растений обладают безусловным преимуществом при разработке новых вакцин, так как они не патогенны для млекопитающих, в том числе для человека.

Типичный представитель группы потексвирусов – Х-вирус картофеля (ХВК). Из опытных данных криоэлектронной микроскопии [1] и тритиевой планиграфии [2] следует, что структура субъединицы ХВК существенно отличается от глобулярной, в частности не существует гидрофобного ядра. Проведен системный анализ причин этих отклонений. Одна из причин – это биологическая функция защиты РНК.

Проведено моделирование полноразмерного белка с помощью сервера I-Tasser [3] и впервые рассмотрена конформация его N-конца.

Предложен критерий компактности укладки полипептидной цепи в пространстве

$$\sigma = \frac{R_g \cdot \sqrt{6}}{N \cdot d_{CA}},$$

где d_{CA} – расстояние между последовательными CA -атомами; N – число остатков; R_g – радиус гирации (среднее расстояние между центрами атомов объекта).

В отличие от используемых в литературе эмпирических формул показано, что радиус гирации системы из k фрагментов, содержащих n_i точек ($i=1..k$), можно представить в виде

$$R_g^2 = \sum_{i=1}^k v_i (d_i^2 + \rho_{gi}^2),$$

где d – расстояние от центра i -го компонента до общего центра; ρ_{gi} – i -ый радиус гирации; $v_i = n_i/N$ – доля i -го фрагмента. Это дает возможность оценить вклад радиусов гирации аминокислотных остатков по первичной структуре белка.

Для нахождения радиуса гирации субъединиц оболочки ХВК и вычисления σ проведены расчеты на базе PDB-файла 6r7g [1], содержащего информацию о координатах центров атомов фрагмента вирусной оболочки ХВК. Атомы аппроксимировали Ван-дер-Ваальсовыми сферами с известными радиусами. Радиусы гирации аминокислотных остатков рассчитывали как среднее расстояние центра атома субъединицы до ее центра. Величина d_{CA} составила $0,3793 \pm 0,0025$ нм. Для полностью развернутой цепи $\sigma = 1$, глобулярного белка лизоцима $\sigma = 0,47$, белка оболочки = $0,7$. С увеличением σ силы взаимодействия между атомами ослабевают, лабильность белка возрастает.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-00525а и в рамках государственного задания Минобрнауки России (Тема 0082-2019-0015, № АААА-А20-120031490003-7).

1. Grinzato A., Kandiah E., Lico C., Betti C., Baschiery B., Zanotti G. Atomic structure of potato virus X, the prototype of the Alphaflexiviridae family // *Nature Chem. Biol.*, 2020, vol. 16, pp 564-569, DOI: 10.1038/S41589-020-0502-4

2. Lukashina E., Ksenofontov A., Fedorova N. et al. Analysis of the role of the coat proteins n-terminal segment in potato virus x stability and functional activity // *Mol. Plant Pathology*, 2012, vol. 12, pp. 38-45, DOI: 10.1111/J.1364-3703.2011.00725.

3. Yang Zhang. I-TASSER server for protein 3D structure prediction // *BMC Bioinformatics*. 2008, vol. 9, p. 40, DOI: 10.1186/1471-2105-9-40.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУР И СВОЙСТВ ДИФЕНИЛАЛАНИНОВЫХ ПЕПТИДНЫХ НАНОТРУБОК, СОДЕРЖАЩИХ МОЛЕКУЛЫ ВОДЫ

Molecular Modeling of Structures and Properties of Diphenylalanine Peptide Nanotubes, Containing Water Molecules

Быстров В.С., Филиппов С.В., Жулябина О.А., Твердислов В.А.

Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, г. Пущино, РФ,
vsbys@mail.ru

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ

Самосборка сложных молекулярных структур на основе аминокислот является одним из важнейших явлений как в живой природе, так и в искусственной биомиметике [1]. При этом существенную роль в процессах самосборки играет и хиральность исходных молекул [2]. В настоящей работе мы сосредотачиваемся на дальнейшем исследовании структурных и физических (в т. ч. сегнетоэлектрических) свойствах пептидных нанотрубок на основе дифенилаланина (FF PNT) [3] различной хиральности L-FF & D-FF, имеющих молекулярные кластеры воды во внутренней гидрофильной полости PNT. В работе определяется оптимальное возможное количество молекул воды на элементарную ячейку (или PNT из 2-х витков спирали) и анализируется влияние этих молекул воды на свойства PNT. В том числе на изменение дипольных моментов и поляризации, а также влияние самих PNT на изменение структуры и свойств (поляризации) встроенных водных кластеров. На основе расчетов FF PNT методами теории функционала плотности [4] в данной работе мы анализируем полярные свойства как самих PNT, так и их водных кластеров. Для этой цели здесь применяются квантовые полуэмпирические методы AM1, PM3, RM1 (HyperChem). Для анализа структур используется метод [5].

Таблица 1. Дипольные моменты и поляризации D-FF PNT и кластеров воды, рассчитанные методом PM3 RHF (HyperChem). Подобные и близкие данные получены методами AM1 и RM1 [4]

Data			D-FF with initial 21 H ₂ O	21 H ₂ O in D-FF cavity		D-FF+21H ₂ O after opt
				Initial 21 H ₂ O	21H ₂ O after opt	
Dipole, Debye	Dt		142,819	2,129	29,331	160,404
	Dz		-142,715	-0,518	-28,320	-160,378
Polarization, C/m ²	VdW volume	Pt	0,12233	0,01096	0,15039	0,13485
		Pz	-0,12224	-0,00267	-0,14521	-0,13483
	Volume	V, Å ³	3894,21	647,82	650,55	3967,61

В данном сообщении представлены и проанализированы результаты полуэмпирических расчетов методом PM3 (HyperChem) для структур нанотрубок D-FF, пустых и заполненных кластерами вода/лед. Полученные результаты показывают, что после оптимизации дипольный момент и поляризация D-FF PNT и встроенного в гидрофильную полость ПНТ кластера вода/лед усиливаются (табл. 1); а сам кластер вода/лед приобретает спиралевидную структуру, аналогичную D-FF PNT. Обсуждаются также сегнетоэлектрические свойства оптимизированного спирального водно/ледяного кластера и свойства D-FF PNT с таким встроенным кластером.

1. Calvin M. Chemical evolution. Molecular evolution, towards the origin of living system on the Earth and elsewhere. Oxford: Claredon, 1969.

2. Tverdislov V.A. Chirality as a primary switch of hierarchical levels in molecular biological systems // Biophysics, 2013, vol. 58, № 1, pp. 128-132, DOI: 10.1134/S0006350913010156.

3. Bystrov V.S., Zelenovskiy P.S., Nuraeva A.S., Kopyl S., Zhulyabina O.A., Tverdislov V.A. Molecular modeling and computational study of the chiral-dependent structures and properties of the self-assembling diphenylalanine peptide nanotubes // J. Mol. Modeling, 2019, vol. 25, p. 199, DOI: 10.1007/s00894-019-4080-x.

4. Bystrov V.S., Coutinho J., Zhulyabina O.A., Kopyl S.A., Zelenovskiy P.S., Nuraeva A.S., Tverdislov V.A., Filippov S.V., Kholkin A.L., Shur V.Ya. Modeling and physical properties of diphenylalanine peptide nanotubes, containing the water molecules // Ferroelectrics, 2020. – В печати.

5. Филиппов С.В., Быстров В.С. Визуально-дифференциальный анализ структурных особенностей внутренних полостей двух хиральных форм дифенилаланиновых нанотрубок // Биофизика, 2020, т. 65, № 3, с. 445-452, DOI: 10.31857/S0006302920030035.

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ И КОНФОРМАЦИОННАЯ ПОДВИЖНОСТЬ НЕЙРОПЕПТИДА LEU-ГАЛЛАТОСТАТИНА 2

Spatial Structure and Conformational Mobility of Neuropeptide Leu - Callatostatin 2

Велиева Л.И., Алиев Р.Э.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, rashid_aliev@mail.ru

Leu-галлатостатин 2 тетрадекапептидное соединение, включающие в себя восемь аминокислотных остатков *Leu*-галлатостатина 3. Поэтому исследование его пространственного строения проводилось на основе результатов расчета, полученных для *Leu*-галлатостатина 3 согласно схеме, приведенной на рисунке 1. Для изучения пространственной структуры молекулы был использован метод теоретический конформационный анализ, описанный в работах [1-4]. Расчеты велись поэтапно, на основе стабильных конформаций метиламидов *N*-ацетил- α -аминокислот с учетом различных ориентаций их боковых цепей.

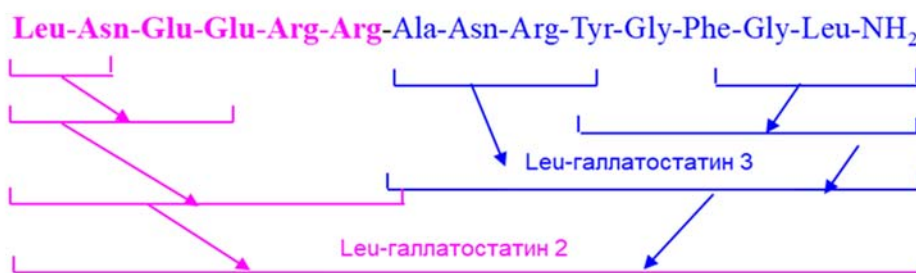


Рисунок 1

Общее число структурных вариантов для *Leu*-галлатостатина 2 составлено на основе сочетания 38 структур *Leu*-галлатостатина 3 и 17 низкоэнергетических конформационных состояний *N*-концевого гексапептида, перекрывающихся по остатку *Ala*⁷. Минимизация конформационной энергии всего нейропептида проводилась при варьировании 81 двугранного угла в основной и боковых цепях остатков для различных типов структур пептидного остова молекулы. Из 285 рассчитанных конформаций лишь 47 обладают энергией, значение которой удовлетворяет условию $\Delta E_{\text{отн.}} \leq 10$ ккал/моль.

Несмотря на резкое различие в энергии полученных структур, все они представляют сочетание наиболее выгодных состояний фрагментов *Leu*¹-*Arg*⁶ и *Ala*⁷-*Leu*¹⁴ молекулы *Leu*-галлатостатина 2.

Поэтому важным этапом исследований является нахождение локальных минимумов в окрестностях полученных значений конформационной энергии путем построения серии конформационных карт φ - ψ и χ_i - χ_{i+1} . Они позволили устранить возникающие в ряде случаев при объединении фрагментов дестабилизирующие контакты и провести минимизацию энергии при варьировании ограниченного числа переменных.

1. Попов Е.М. Структурная организация белков. М.: Наука, 1989, 352 с.
2. Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М. Программа полуэмпирического расчёта конформаций молекулярных комплексов на ЭВМ // Журнал структурной химии, 1983, т. 24, № 4, с. 147-148.
3. Momany F.A., McGuire R.F., Burgess A.W., Scheraga H.A. Energy Parameters in Polypeptides: Geometric Parameters, Partial Atomic Charges, Nonbonded Interaction for Naturally Occuring Amino Acid // Phys. Chem., 1975, vol. 79, p. 2361-2381.
4. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature Abbreviations and Symbols for Description of Conformation of Polypeptide Chains // Pure Applied Chem., 1974, vol. 40, p. 291-308.

МЕТОДЫ ПОДОБИЯ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПАРЫ КЛЕТОК СИНОАТРИАЛЬНОГО УЗЛА СЕРДЦА

Similitude Methods and Simulation of the Electrical Activity of Two Sinoatrial Node Cells

Галанин В.В.

Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, РФ, galanin_v@hotmail.com

Сердце обладает способностью генерировать свое собственное электрическое возбуждение. В норме источником этого возбуждения являются пейсмекерные клетки, расположенные в синоатриальном узле – области естественного водителя ритма сердца. Для клеток синоатриального узла характерно самопроизвольное смещение мембранного потенциала и последующий запуск потенциала действия. В результате каждую клетку синоатриального узла можно рассматривать как релаксационную автоколебательную систему, генерирующую потенциал действия с определенной частотой.

Математическая модель Ходжкина-Хаксли и ее аналоги являются одним из наиболее детальных описаний процессов электрического возбуждения на мембране клеток. Однако эта модель представляет собой систему нелинейных дифференциальных уравнений, которые достаточно сложны для анализа. Кроме того, задача значительно усложняется при переходе к большой системе электрически связанных клеток.

В настоящем исследовании на примере пары взаимодействующих клеток центральной области синоатриального узла сердца кролика показано, как с помощью методов теории подобия можно упростить исходную систему дифференциальных уравнений и при этом сохранить существенные свойства и параметры модели. Задача состоит в том, чтобы установить подобие между моделями пары электрически связанных пейсмекерных клеток и некоторого одиночного пейсмекера. Подобие означает пропорциональность сходных величин и параметров сопоставляемых объектов.

Пусть имеется система уравнений, описывающая две взаимосвязанные пейсмекерные клетки:

$$C \frac{dV_1}{dt} = -\sum_i I_{1i}(V_1, x_{i1}) - g_c(V_2 - V_1), \quad \frac{dx_{i1}}{dt} = a_{i1} \frac{\bar{x}_{i1} - x_{i1}}{\tau_{xi1}},$$

$$C \frac{dV_2}{dt} = -\sum_i I_{2i}(V_2, x_{i2}) - g_c(V_1 - V_2), \quad \frac{dx_{i2}}{dt} = a_{i2} \frac{\bar{x}_{i2} - x_{i2}}{\tau_{xi2}},$$

где C – емкость мембраны; $V_{1,2}$ – мембранный потенциал клетки 1 и 2, соответственно; $I_{1,2i}$ – сила тока через ионные каналы мембраны, проводимость которых является функцией мембранного потенциала и переменных активации и инактивации $x_{i1,2}$; $a_{i1,2}$ – параметры, введенные в модель для управления частотой колебаний потенциала; g_c – электропроводимость щелевых контактов между клетками.

Системы уравнений для 1-го и 2-го пейсмекера взаимно преобразуемы при следующей замене переменных:

$$V_1 = K_{12}V_2, \quad V_2 = K_{21}V_1,$$

K_{12} и K_{21} – так называемые масштабные коэффициенты.

С учетом замены исходная система уравнений приобретает вид:

$$C \frac{dV_1}{dt} = -\sum_i I_{1i}(V_1, x_{i1}) - g_c(K_{21} - 1)V_1, \quad (1)$$

$$C \frac{dV_2}{dt} = -\sum_i I_{2i}(V_2, x_{i2}) - g_c(K_{12} - 1)V_2. \quad (2)$$

Следовательно, каждый из двух пейсмекеров, образующих клеточную систему, подобен другому.

С другой стороны, запишем систему уравнений, соответствующую некоторому уединенному пейсмекеру.

$$C \frac{dV}{dt} = -\sum_i I_i(V, x_i), \quad \frac{dx_i}{dt} = a_i \frac{\bar{x}_i - x_i}{\tau_{xi}}. \quad (3)$$

Можно показать, что следующая замена переменных преобразует систему (3) в (1) и (2):

$$V = K_1 e^{\alpha_1 t} V_1, \quad V = K_2 e^{\alpha_2 t} V_2, \quad \tau_{xi1} = K_{\tau x1} \tau_{xi}, \quad \tau_{xi2} = K_{\tau x2} \tau_{xi}, \quad (4)$$

где $\alpha_{1,2} = \frac{g_c}{C} (K_{21,12} - 1)$, $K_{\tau x1,2} = a_i / a_{i1,2}$.

Определив масштабные коэффициенты (4), связывающие рассматриваемые системы уравнений, мы установили подобие между парой взаимодействующих пейсмекеров и некоторым одиночным пейсмекером. С физической точки зрения это подобие обусловлено тем, что поверхность мембраны взаимодействующих клеток можно считать практически эквипотенциальной [1], а сами клетки находятся в одинаковой фазе возбуждения. В результате вся система в функциональном отношении подобна некоторой одиночной клетке.

Таким образом, подход, использующий методы теории подобия, позволяет не только упростить математическое решение данной системы дифференциальных уравнений (вместо двух систем нелинейных дифференциальных уравнений достаточно решить одну систему), но и выявить общую для рассматриваемых биологических систем структуру.

1. Verheijck E.E., Wilders R., Joyner R.W. et al. Pacemaker synchronization of electrical coupled rabbit sinoatrial node cells // J. Gen. Physiol., 1998, vol. 111, pp. 95-112.

САМООРГАНИЗОВАННАЯ КРИТИЧНОСТЬ В АВТОВОЛНОВОЙ МОДЕЛИ ФИКСАЦИИ МУТАЦИЙ

Self-organized Criticality in the Automote Mutation Fixation Model

Гараева А.Я., Сидорова А.Э., Левашова Н.Т.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, sky314bone@mail.ru

В процессе самоорганизации, системы, состоящие из когерентно взаимодействующих компонентов, при определенных условиях способны спонтанно переходить в состояние непрерывного накопления малых флуктуаций. Для природных систем критическое состояние – это этап процесса самоорганизации при отсутствии подстройки регулирующего параметра, которое отделяет упорядоченное состояние системы от менее упорядоченного. При этом эволюция природных систем, находящихся в состоянии термодинамического неравновесия, определяется флуктуационно-бифуркационной траекторией, где даже незначительные

флуктуации могут привести к формированию качественно новой структуры – «лавинам» [1] любых масштабов. С точки зрения теории самоорганизованной критичности, эволюционному процессу в полной мере присущи: активные центры децентрализации [1], фликкер-шум, автокатализ и качественное изменение структуры и функций после преодоления точки бифуркации.

Общая идея самоорганизованной критичности обнаруживается во многих сложных системах – от лавин и землетрясений, до процессов видообразования [2]. В данной работе рассматривается проявление самоорганизованной критичности посредством автоволнового уравнения фиксации мутаций. Для построения автоволновой модели видообразования на популяционном уровне использованы экспериментальные данные оценки скорости мутаций двух групп мышей [3] и одноклеточных эукариотов (*Saccharomyces cerevisiae*) [4]. Для популяции мышей модель рассмотрена при условии отключения корректирующей активности полимеразы δ - фермента, способствующего точному синтезу ДНК, а для групп одноклеточных эукариотов *Saccharomyces cerevisiae* – диплоидных и гаплоидных [4] при условиях отключения комплекса MMR (mismatch repair – репарация ошибочно спаренных нуклеотидов) и корректирующей активности полимеразы δ . Результаты моделирования подтверждают экспериментальные данные, согласно которым накопление мутаций диплоидными организмами происходит более медленными темпами, чем гаплоидными.

На основании перколяционной модели фиксации мутаций [5] рассмотрена динамика численности мутантной группы мышей по поколениям и скорости мутаций при цепной реакции фиксации мутаций от первоначальных носителей и условиях задержки математического ожидания числа потомства: а) 10 поколений (без учета элиминации носителей рецессивная летальная мутация в течение первых 8 недель жизни); б) 1 поколение (с учетом рецессивных летальных мутаций в первом поколении).

Посредством моделирования (аналогично экспериментальным данным) получены следующие выводы. Наличие трех этапов фиксации рецессивных мутаций: медленное накопление, автокаталитическое увеличение скорости накопления и элиминация носителей мутаций. Скорости фиксации мутаций и динамика численности мутантов определяются генотипом исходных организмов и условиями отключения полимеразы и MMR. Полученные результаты демонстрируют полное соответствие применения автоволновой и перколяционной моделей фиксации мутаций для расчета и анализа динамики скорости мутационных процессов и численности носителей мутаций. Показано, что соответствие между процессами самоорганизованной критичности и активных сред определяется наличием: распределенных ресурсов; активно взаимодействующих элементов системы – модуляторов передачи возбуждения; критических параметров, определяющих пороговое состояние системы.

1. Bak P., Tang C., Wiesenfeld K. Self-organized criticality: An explanation of the $1/f$ noise // Physical review letters.
2. Bak P. How nature works: the science of self-organized criticality // Springer Science & Business Media, 2013.
3. Uchimura A. et al. Germline mutation rates and the long-term phenotypic effects of mutation accumulation in wild-type laboratory mice and mutator mice // Genome research, 2015, vol. 25, № 8, pp. 1125-1134.
4. Herr A.J. et al. Mutator suppression and escape from replication error-induced extinction in yeast // PLoS genetics, 2011, vol. 7, № 10, p. e100228.
5. Sidorova A., Levashova N., Garaeva A., Tverdislov V. A percolation model of natural selection // Biosystems, 2010, vol. 193-194, p. 104120.

НОВЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРОЕНИЯ α -СПИРАЛЬНЫХ ШПИЛЕК В БЕЛКАХ Novel Features of the α -Hairpin Structure in Proteins

Ефимов А.В.

Институт белка РАН, г. Пущино. РФ, efimov@protres.ru

α -Спиральная шпилька – один из самых распространенных структурных модулей в белках. Она состоит из двух соседних по цепи α -спиралей, связанных межспиральным участком. В таких структурах две спирали располагаются антипараллельно и могут образовывать правую или левую шпильку (в случаях упаковок «бок-о-бок»), или шпильку с упаковкой типа «лоб-в-лоб» [1,2]. В правых шпильках вторая по цепи спираль расположена справа относительно первой, а в левых шпильках вторая спираль расположена слева, если смотреть на них с одной стороны, например, со стороны гидрофобного ядра белка. В шпильках с упаковкой «лоб-в-лоб» гидрофобное ядро находится между остовами спиралей. Перетяжки между спиралями могут иметь различную длину и конформацию, однако особый интерес представляют короткие перетяжки, состоящие из 1-2 до 4-5 остатков, поскольку они образуют ограниченный набор стандартных конформаций [3].

Жесткие стандартные структуры коротких перетяжек в значительной степени определяют, что будет образовано – левая или правая шпилька, или шпилька с упаковкой «лоб-в-лоб». В настоящей работе проведен стереохимический анализ таких шпилек с новыми стандартными структурами в перетяжках и определены необходимые условия их образования. Показано, что каждый новый тип α -шпилек имеет определенное и свойственное только ему расположение вдоль полипептидной цепи ключевых гидрофобных, гидрофильных, пролиновых и глициновых остатков.

В шпильках α -спирали могут быть упакованы при различных торсионных углах Ω между их осями. Одним из основных факторов, определяющих углы Ω , является принцип плотной упаковки [4]. Другим важным фактором является геометрия гидрофобных кластеров на поверхности амфифильных α -спиралей. Так, например, если гидрофобные остатки находятся в позициях 1-4-8-11-15... (это так называемый гептадный повтор), то наиболее выгодная упаковка спиралей достигается при $\Omega = 20^\circ$, а если гидрофобные остатки занимают позиции 1-4-8-12-15-19-23... (ундекатадный повтор), то предпочтительным будет интервал углов $\Omega = 0^\circ - (-10^\circ)$ [2]. Отметим, что недавно нами обнаружен еще один фактор, от которого зависят углы Ω между осями упакованных α -спиралей, это – длина спиралей [5]. Если две соседние по цепи α -спирали имеют приблизительно одинаковую и относительно большую длину, то чаще всего они образуют шпильку с углом $\Omega = 20^\circ$. Большинство спиральных пар, в которых одна спираль длинная, а другая – короткая, образуют ортогональные ($\Omega = (-70^\circ) - (-90^\circ)$) или скошенные ($\Omega \sim -50^\circ$) упаковки.

Таким образом, взаимное расположение α -спиралей в шпильках отличается достаточно большим разнообразием. В связи с этим возникает вопрос о том, как происходит отбор определенных шпилек при образовании уникальных белковых структур? В общем виде ответ понятен, это определяется аминокислотной последовательностью. Более конкретно – это зависит в значительной степени от распределения вдоль цепи ключевых гидрофобных, гидрофильных, пролиновых и глициновых остатков. Однако, как показывает анализ, α -спирали с одинаковыми гидрофобными кластерами (т.е., с одинаковым расположением вдоль цепи ключевых гидрофобных и гидрофильных остатков), например, с гептадными повторами, могут образовывать левые и правые шпильки (упаковки «бок-о-бок»), а также шпильки с упаковками «лоб-в-лоб». Одним из путей решения данной проблемы является учет формы и размеров боковых цепей, а также гидрофильных взаимодействий между спиральями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-04-00453).

1. Ефимов А.В. Стереохимия упаковок α -спиралей и β -структуры в компактной глобуле // Доклады АН СССР, 1977, vol. 235, pp. 699-702.

2. Efimov A.V. Complementary packing of α -helices in proteins // FEBS Lett., 1999, vol. 463, pp. 3-6.

3. Efimov A.V. Standard structures in proteins // Prog. Biophys. Mol. Biol., 1993, vol. 60, pp. 201-239.

4. Crick F.H.C. The Packing of α -Helices: Simple Coiled-Coils // Acta Crystallographica, 1953, vol. 6, pp. 689-697.

5. Тихонов Д.А., Куликова Л.И., Ефимов А.В. Зависимость торсионных углов между осями α -спиралей от их длины в белках // Молекулярная биология, 2020, т. 54, с. 333-340.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЛИПРОЛИНОВЫХ АНАЛОГОВ

Structural Organization of the Glyproline Analogues

Исмаилова Л.И., Аббаслы Р.М., Ахмедов Н.А.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан,
lara.ismailova.52@mail.ru

Семейство глипролинов, коротких пептидов, аминокислотные последовательности которых содержат остатки глицина и пролина, относится к регуляторным пептидам. Регуляторные пептиды контролируют все биохимические процессы в живом организме. В настоящее время их механизмы действия мало изучены. Глипролины – это нейрорхимические молекулы психотропного действия, регулируют систему свертывания крови, влияют на работу иммунной и нервной систем[1]. Создание новых лекарственных препаратов на основе глипролинов – современное направление фармакологии. Понять механизмы действия этих биомолекул можно, если решить задачу их структурно-функциональной организации. Целью данной работы является изучение пространственной структуры природной глипролиновой молекулы Pro-Gly-Pro-Gly и его аналогов Pro-Gly-Pro-Arg, Pro-Gly-Pro-Leu, Pro-Gly-Pro-Val и Pro-Gly-Pro-Phe. Эти молекулы участвуют в жизненно важных процессах в живых организмах и используются в качестве лекарственных препаратов.

Актуальным представляется проведение структурно-функциональных исследований глипролинов и их синтетических аналогов на модельных системах с помощью теоретических методов исследования. Создание синтетических аналогов глипролинов, молекулы которых отличаются высокой стабильностью и эффективностью, является важной задачей. Компьютерное моделирование, основанное на использовании метода теоретического конформационного анализа и программ, позволяющих получать графическое изображение пространственной структуры молекулы, было выполнено для данных тетрапептидных молекул. Метод теоретического конформационного анализа дает возможность рассчитывать трехмерную структуру пептидных молекул исходя из известной аминокислотной последовательности. Аналоги природного тетрапептида Pro-Gly-Pro-Gly были получены путем замены С-концевого Gly на аминокислоты Arg, Leu, Val и Phe. Следует отметить, что боковая цепь аминокислоты Pro жесткая, у Gly она отсутствует, боковая цепь Arg – длинная, лабильная, несет положительный заряд, Leu и Val имеют объемные боковые цепи, а боковая цепь Phe имеет ароматическое кольцо.

Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учётом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Потенциальная энергия каждой из этих молекул рассматривалась как сумма невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Для каждой тетрапептидной молекулы были найдены низкоэнергетические конформации, значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий.

Расчет природной глипролиновой молекулы Pro-Gly-Pro-Gly начинался с выяснения конформационных возможностей дипептидной молекулы Pro-Gly, затем трипептидной Pro-Gly-Pro и, наконец, всей тетрапептидной молекулы. Молекула насчитывала 48 атомов и 11 переменных двугранных углов. Расчет обнаружил 20 низкоэнергетических конформаций, попадающих в энергетический интервал 0 – 4 ккал/моль. Самыми низкоэнергетическими оказались конформации со свернутой основной цепью RRRR, RRRB, BPRR, RRPB и полусвернутой основной цепью BRRB, BRBP и BRBB. Расчет показал, что низкоэнергетическими для молекул глипролиновых тетрапептидных аналогов являются также свернутые и полусвернутые формы основной цепи. Такие формы сближают участки основной цепи и боковые цепи аминокислот, входящих в эти молекулы, и приводят к их эффективным взаимодействиям.

Расчеты трехмерной структуры пептидных молекул позволяют определить геометрические и энергетические параметры пептидов, значения двугранных углов основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в молекулу, а так же энергетические вклады внутримолекулярных взаимодействий. Для нахождения пространственного строения данных пептидных молекул использовалась специально разработанная программа [2]

1. Мартынова К.В., Андреева Л.А., Климова П.А. и др. Структурно-функциональные исследования глицин и пролин содержащих пептидов, являющихся нейропротекторами // Биорг. хим., 2009, т. 35, № 2, с. 165-171.

2. Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М. Программа полуэмпирического расчета конформаций молекулярных комплексов на ЭВМ // Журнал структурной химии, 1983, т. 24, № 4, с. 147-148.

ВЛИЯНИЕ ПОСЛЕДНЕЙ ПОЗИЦИИ N-КОНЦЕВОГО β -ТЯЖА НА ОТБОР РАСЩЕПЛЁННЫХ И НЕРАСЩЕПЛЁННЫХ $\beta\alpha\beta$ -ЕДИНИЦ Influence of the Last Position of the N-Terminal β -Strand on the Selection of Split and Unsplit $\beta\alpha\beta$ -Units

Каргатов А.М.

Институт белка РАН, г. Пущино, РФ, kargatov@vega.protres.ru

$\beta\alpha\beta$ -Единица является основным структурным элементом $\alpha\beta$ -белков. Она состоит из двух параллельно упакованных β -тяжей, соединённых одной или несколькими α -спиралями. Различают «правые» и «левые» $\beta\alpha\beta$ -единицы (закрученные в правую или левую суперспираль), нерасщеплённые и расщеплённые одним, двумя и большим количеством дополнительных β -тяжей, встраивающихся между β -тяжами мотива (рис. 1). В грубом приближении все $\alpha\beta$ -белки можно представить в виде комбинаций $\beta\alpha\beta$ -единиц разного типа. По этой причине умение определять степень их расщеплённости по аминокислотной последовательности имеет высокую научную важность и требуется как для белкового дизайна, так и для предсказания пространственной структуры белков, не имеющих близких гомологов.

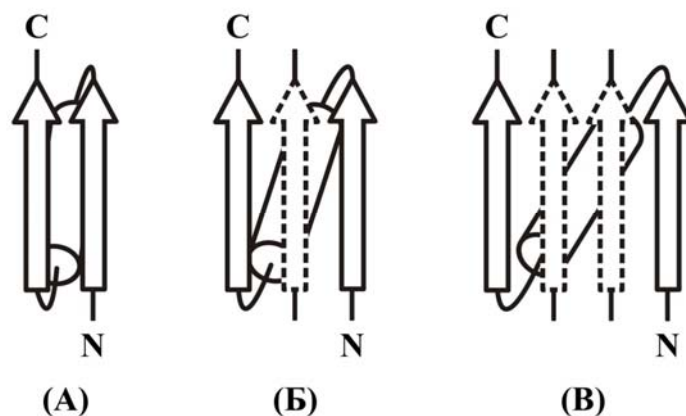


Рисунок 1. Виды «правых» $\beta\alpha\beta$ -единиц: (A) – нерасщеплённая, (Б) – единожды расщеплённая, (В) – дважды расщеплённая. β -Тяжи показаны в виде стрелок (расщепляющие структуру – пунктирных), α -спирали – в виде цилиндров

Анализ выборки негомологичных белков, содержащей 534 нерасщеплённых, 375 единожды расщеплённых и 155 дважды расщеплённых «правых» $\beta\alpha\beta$ -единиц (взята из работы [1]) показал, что если последняя позиция N-концевого β -тяжа внутренняя и за ней следует короткая петля (1-3 остатка), то в нерасщеплённых $\beta\alpha\beta$ -единицах эта позиция в 90% случаев не содержит гидрофобных остатков с массивными боковыми цепями. В единожды расщеплённых, напротив, 49% таких позиций занято массивными гидрофобными остатками, а в дважды расщеплённых – 66%. При дальнейшем увеличении длины петли гидрофобность позиции становится больше, но разница между расщеплёнными и нерасщеплёнными $\beta\alpha\beta$ -единицами уменьшается. Так, при длине петли 4-6 остатков доля крупных гидрофобных боковых цепей составляет 39%, 60% и 63% соответственно.

Причина этого явления может заключаться в том, что молекулы воды, кристаллизуясь на поверхности гидрофобного остатка в рассматриваемой позиции, вдавливают его в гидрофобное ядро. Это приводит к смещению α -спирали и невозможности упаковать второй β -тяж $\beta\alpha\beta$ -единицы рядом с первым. Образование стабильной структуры становится возможным только после встраивания между ними одного или нескольких дополнительных β -тяжей, соседних или удалённых по цепи. Таким образом, найденная закономерность вместе с рядом других, отмеченных ранее [1], может играть важную роль при отборе расщеплённых и нерасщеплённых $\beta\alpha\beta$ -единиц.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00453

1. Kargatov A.M. Structural features of split and unsplit $\beta\alpha\beta$ -units // J. Struct. Biol., 2020, vol. 209, № 1, DOI: 10.1016/j.jsb.2019.107427.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ КРУПНЫХ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ Modeling of Dynamics in Large Blood Vessels

Клочков Б.Н.

Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, РФ, klochkovbn@gmail.com

Предложено математическое моделирование динамики сосудов. Рассмотрены распределенные модели крупных кровеносных сосудов с протекающей в них кровью, учитывающие как осесимметричные, так и неосесимметричные деформации, наличие продольного и азимутального натяжений стенки сосуда. Это позволяет получить дисперсионные характеристики волновых процессов и выражение для частоты колебаний. Получены также выражения для критических скоростей потока крови, выше которых становится неустойчивой та или иная угловая мода сосуда. Проведенные для крупных кровеносных сосудов оценки показывают возможность возникновения в них как статического и квазистатического режима, так и режима колебаний. Критические скорости течения крови могут достигаться для вен в обычных условиях, а для артерий – при функциональных или диагностических сдавливаниях, при патологических изменениях. Показана возможность существования фиксированных структур сосуда.

В нормальных условиях скорость крови в крупных артериях может достигать 1,5-2,9 м/с, а при некоторых патологиях скорость течения крови в сосудах может значительно увеличиваться по сравнению с обычными условиями [1-3]. Кроме этого существуют заболевания, связанные с уменьшением модуля Юнга материала стенки сосуда, что приводит к снижению критической скорости крови. Максимальная скорость крови в крупных венах может составлять 0,5 м/с. Существует диапазон частот колебаний в системе сосуд–кровь 25-500 Гц. Анализ значений модуля упругости стенки сосуда E показывает, что существует их значительный разброс на несколько порядков. Необходимо различать условия содержания сосуда, у сосудистых препаратов из-за их физико-химической обработки значения E могут существенно превышать соответствующие значения в живом действующем состоянии. Приводятся довольно низкие значения модуля упругости сосуда $E=10^2\text{--}5\times 10^4$ Н/м² [1-4]. Вместе с этим существуют и данные значительно больше приведенных. Характерные значения радиуса для рассматриваемых сосудов лежат в пределах следующих значений $R_0=10^{-3}\text{--}1.2\times 10^{-2}$ м. Критические скорости крови существенно падают с уменьшением относительной толщины стенки сосуда q , ее минимальные значения составляют $q=0.02\text{--}0.04$.

Оценки сделаны при помощи полученных аналитических формул и выражений. Так, при $q=0.02$, $E=4\times 10^3$ Н/м², $R_0=3\times 10^{-3}$ м минимальная критическая скорость потока крови для возникновения неустойчивости равна $U_{cr}=0.28$ м/с, соответствующая частота равна $f_{cr}=153$ Гц. Минимальная критическая скорость крови для структурирования, извитости сосуда составляет $U_{oc}=0.12$ м/с, то есть почти в два раза меньше U_{cr} . Заметим, что сжатие сосуда, уменьшение его просвета S тем или иным способом, например, при медицинских диагностических измерениях дает увеличение скорости крови U , которая может стать выше критической, поскольку расход через сосуд $g=US=\text{const}$. С этой неустойчивостью могут быть связаны акустические, звуковые явления, регистрируемые микрофоном, акселерометром или другими приемниками колебаний. Если учесть вязкость протекающей крови и вязкость биологической ткани материала стенки сосуда, то можно показать, что область неустойчивости существенно расширяется, и возможность появления рассматриваемых эффектов облегчается.

Измеренная скорость распространения пульсовой волны составляет 4-14 м/с для крупных артериальных сосудов и 1-2 м/с для крупных венозных сосудов. Оценка скорости пульса в области устойчивости при $q=0.04$,

$E=5 \times 10^4$ Н/м², $U=0,1$ м/с получается равной $C=1,25$ м/с. Сделанные оценки показывают правдоподобность результатов для венозных и артериальных сосудов в норме и при ряде патологий. Живые ткани характеризуются механохимическими параметрами, которые могут значительно меняться функционально или тем более квазипатологически, тем самым могут реализовываться различные динамические и статические режимы. Заметим, что в живом организме может происходить прорастание ткани через так называемые ростовые деформации, и этот более медленный процесс может взаимодействовать с динамикой системы сосуд–кровь и закреплять статическую структурную извитость.

Работа выполнена в рамках Госзадания ИПФ РАН, проект № 0035–2014–0008.

1. Педли Т. Гидродинамика крупных кровеносных сосудов. М.: Мир, 1983, 400 с.
2. Каро К., Педли Т., Шротер Р., Сид У. Механика кровообращения. М.: Мир, 1981, 642 с.
3. Физиология кровообращения: Физиология сосудистой системы. Руководство по физиологии. Л.: Наука, 1984, 656 с.
4. Березовский В.А., Колотилев Н.Н. Биофизические характеристики тканей человека. Справочник. Киев: Наук. Думка, 1990, 224 с.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ИДЕАЛЬНОГО ГАЗА НЕЛИНЕЙНЫХ КОНФОРМАЦИОННЫХ ВОЗМУЩЕНИЙ – КИНКОВ, АКТИВИРОВАННЫХ В КОЛЬЦЕВОЙ ПЛАЗМИДЕ pTTQ18

**Thermodynamic Potentials of the Ideal Gas of Nonlinear Conformational Perturbations – Kinks Activated in the
Ring Plasmid pTTQ18**

Краснобаева Л.А.^{1,2}, Якушевич Л.В.³

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, РФ,

² Томский государственный университет, г. Томск, РФ, kla1983@mail.ru

³ Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований», г. Пущино, РФ, kind-@mail.ru

Открытые состояния ДНК, которые представляют собой локально расплетенные участки двойной спирали, играют важную роль в процессах транскрипции, репликации, денатурации. Для моделирования динамики открытых состояний часто используют уравнение синус-Гордона и его одно-солитонные решения – кинки. В «нерелятивистском» приближении поведение кинков аналогично поведению квазичастиц, обладающих определенной массой (m_0), скоростью (v_k) и энергией покоя (E_0). В данной работе рассматривается вопрос о статистике ансамбля кинков, активированных в плазмиде pTTQ18. Эта плазида широко используется в геномной инженерии для передачи генетической информации и для генетических манипуляций [1]. Длина последовательности плазмиды составляет всего 4563 пар оснований [2], что делает ее удобным объектом для изучения методами математического моделирования.

Для расчета термодинамических потенциалов ансамбля кинков было использовано приближение идеального газа. Все расчеты выполнялись для случая фиксированного числа кинков и все кинки, активированные в плазмиде предполагались одинаковыми.

При этих условиях с ростом температуры свободная энергия ансамбля кинков:

$$F = N \left[8\sqrt{K'V} - k_B T \ln \left(\frac{2L}{\hbar C} \frac{e}{N} \sqrt{\frac{k_B T}{\pi}} \sqrt{K'V} \right) \right]$$

уменьшается, а средняя энергия и энтропия:

$$\varepsilon = N \left(8\sqrt{K'V} + \frac{k_B T}{2} \right), \quad S = N \left[\frac{1}{2} + \ln \left(\frac{2L}{\hbar C} \frac{e}{N} \sqrt{\frac{k_B T}{\pi}} \sqrt{K'V} \right) \right]$$

увеличиваются. В рассматриваемом приближении теплоемкость ансамбля кинков:

$$C_{v,k} = N k_B / 2$$

не зависит ни от температуры, ни от вида последовательности, а функция распределения кинков по скоростям:

$$\rho_{ki}(v_{ki}) = \sqrt{\frac{m_k}{2\pi k_B T}} e^{-\left(\frac{m_k v_{ki}^2}{2k_B T}\right)}$$

имеет форму колокола, высота которого достигает максимума при нулевой скорости кинка. В приведенных выше аналитических формулах L – длина последовательности плазмиды, T – абсолютная температура, k_B – постоянная Больцмана, $\bar{K}'$ – константа, характеризующая крутильную жесткость сахаро-фосфатной цепочки, $\bar{V}$ – константа, характеризующая взаимодействие между основаниями внутри пар, C – скорость звука в плазмиде pTTQ18.

Из этих формул следует, что, все термодинамические характеристики, кроме теплоемкости, зависят от динамических параметров плазмиды: $\bar{K}'$, $\bar{V}$ и C . Эти параметры были рассчитаны нами методом концентраций, что дало возможность построить графики временной зависимости основных термодинамических потенциалов ансамбля кинков, активированных в плазмиде pTTQ18.

1. Stark MJR. Multicopy expression vectors carrying the lac repressor gene for regulated high-level expression of genes in *Escherichia coli* // *Gene*, 1987, vol. 51, № 2-3. pp. 255-267.

2. The DNA sequence [link]. <https://media.addgene.org/snapgene-media/v1.6.2-0-4b4ed87/sequences/18/42/121842/addgene-plasmid-69122-sequence-121842.gbk>.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПЕРЕХОДА К АГРЕГАЦИИ В ПОПУЛЯЦИИ МИКСАМЕБ Modeling of Transition to Aggregation in Population of *Mycamoebas*

Кручинин И.В., Яковенко Л.В.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, iv.kruchinin@physics.msu.ru

Dictyostelium discoideum (DD) – клеточный слизевик, относящийся к типу Mycetozoa. Описанный в 1935 году, DD вскоре стал одним из важных модельных организмов в клеточной биологии, генетике и биологии развития. Большую часть времени DD проводит в виде одиночных почвенных амёб, однако при определённых условиях амёбы образуют подвижные агрегаты, а затем многоклеточные плодовые тела сложного строения. Происходящие при этом процессы межклеточной сигнализации, клеточной дифференцировки, морфогенеза и др. позволяют использовать его в качестве модельного объекта в биологии развития.

Миксамебы питаются бактериями и размножаются посредством митоза. При истощении пищевых ресурсов начинается их агрегация. Отдельные клетки в популяции переходят в режим «голодания» и начинают выделять циклический аденозинмонофосфат (сАМР), который служит хемоаттрактантом для других клеток. Помимо сАМР, во внеклеточную среду выделяется несколько видов фосфодиэстераз (PDE) и ингибитор PDE (PDI), служащие регуляторами распространения сАМР в среде.

В настоящей работе представлена математическая модель перехода популяции миксамеб от питания к агрегации. Клетка DD, выделяющая сАМР в среду, является системой с пороговой возбудимостью, то ее хорошо описывает модель Фитц-Хью–Нагумо, которая хорошо себя зарекомендовала в моделировании нейронной возбудимости. В данном случае математически модель Фитц-Хью–Нагумо с гауссовым шумом представляет собой систему стохастических уравнений Ланжевена [1]:

$$\begin{aligned}\frac{dA}{dt} &= f(A) - (R - b) + I_{\text{сАМР}} \text{ex} + \eta, \\ \frac{dR}{dt} &= \varepsilon * ((A - a) - \gamma * (R - b)) + \varepsilon * C_0,\end{aligned}$$

где $f(A) = A - a - \frac{(A-a)^3}{3}$, активатор A – концентрация сАМР, репрессор R – концентрация Ca^{2+} в цитозоле, между активатором и репрессором определены обратные положительная и отрицательная связи.

Между концентрациями циклического циклоаденозинмонофосфата в клетке и в цитозоле существует определенная зависимость [2]. Считается, что именно благодаря колебаниям концентрации свободного кальция в цитозоле клетка секретирует сАМР во внешнюю среду пульсациями, с наличием рефрактерного периода между ними.

Результаты численных расчетов с использованием этой модели показывают, что за 300 минут от начала голодания 9-98% популяции миксамеб проходят промежуточную стадию между началом голодания и агрегацией.

1. Sgro A.E., Schwab D.J., Noorbakhsh J., Mestler T. et al. From intracellular signaling to population oscillations: bridging size- and time-scales in collective behavior // *Mol. Syst. Biol.*, 2015, vol. 11, p. 779.

2. Malchow D., Lusche D.F., Schlatterer C. A link of Ca^{2+} to cAMP oscillations in *Dictyostelium*: the calmodulin antagonist W-7 potentiates cAMP relay and transiently inhibits the acidic Ca^{2+} -store // *BMC Developmental Biology*, 2004, vol. 4, p. 7.

СТРУКТУРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВИРИОНОВ ПОТИВИРУСОВ В РАСТВОРЕ ПО ДАННЫМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ

Structural Modeling of Potyvirus Virions in Solution According Small Angle X-Ray Scattering Data

Ксенофонов А.Л.¹, Петухов М.В.², Скурат Е.В.³, Добров Е.Н.¹, Штыкова Э.В.²

¹ НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, ksenofon@belozersky.msu.ru

² Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, г. Москва, РФ, shtykova@ns.crys.ras.ru

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

Гибкие нитевидные растительные вирусы трудны для структурного изучения методом малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) из-за их размеров (длина 500-700 нм) и их структурного полиморфизма. А вирус картофеля (АВК) принадлежит к роду потивирусов, приносящих значительный экономический урон сельскому хозяйству. Данных о структуре АВК высокого разрешения нет, однако в 2019 г. удалось с помощью крио-электронной микроскопии (ЭМ) получить структуру похожего на АВК потивируса YBK [1]. Вирионы потивирусов содержат в составе белков оболочки (БО) неупорядоченные N-домены, функция которых не ясна. В настоящей работе мы провели сравнительное исследование структур интактных и частично деградированных вирионов АВК (без 32-х аминокислот в каждом из N-концевых доменов (АВКΔ32) с помощью МУРР. Данные рассеяния образцов в растворе были получены на линии P12 BioSAXS (EMBL, Гамбург). Согласно данным просвечивающей ЭМ вирионы АВКΔ32 морфологически ничем не отличались от интактных. В то же время, экспериментальный профиль рассеяния образца интактных вирионов АВК отличался от деградированных АВКΔ32 смещением положения брегговского максимума, что предполагало изменение параметров спиральности вириона. При этом, кривые МУРР в координатах Кратки практически совпали на интервале вектора рассеяния $0,2 < s < 0,5 \text{ \AA}^{-1}$, что говорило об одинаковой степени компактности вирусных частиц. Тонкое структурное моделирование вирионов было выполнено с использованием доступной кристаллографической модели потивируса YBK (PDB:6hxx) [1] поскольку первичные структуры БО YBK и АВК имели высокую гомологичность (64% идентичных а.а.). Фрагмент из 4-х витков YBKΔ43 (без 43 N-концевых а.а.) был многократно воспроизведен вдоль винтовой оси для построения моделей, содержащих 2-48 витков (18-420 субъединиц) с максимальной длиной ~1700 Å. С помощью программы CRY SOL [2] была рассчитана кривая рассеяния и вычислены структурные инварианты YBKΔ43 (молекулярная масса M, радиус инерции R_g и исключенный объем V), которые затем сравнили с инвариантами, рассчитанными для интактного и частично деградированного вириона АВК в растворе.

Таблица 1

Инварианты	Модели YBKΔ43 с разным числом витков и, соответственно, с разным числом БО)					Образцы АВК	
	2 (18)	4 (35)	8 (70)	24 (211)	48 (422)	АВКΔ32	интактный АВК
M aa, (кДа)	459	892	1784	5378	10756	–	–
M Crysol, (кДа)	485	942	1885	5654	11310	–	–
V (Å ³)	8,0E+05	1,6E+06	3,1E+06	9,3E+06	1,9E+07	2,3E+07	2,7E+07
R _g (Å)	55	65	96	247	477	340	335

Значения инвариантов, определенных для вирионов АВК и АВКΔ32, оказались близки к значениям реконструированной модели YBKΔ43 с 48 витками. Кривые рассеяния деградированных вирионов АВКΔ32 лучше коррелируют с данными от модели YBKΔ43 чем интактные вирионы АВК, что подтверждает значимый вклад в рассеяние разупорядоченных N-доменов.

Впервые структурные данные низкого разрешения нитевидных вирионов потивирусов были получены в растворе в условиях, близких к естественным. Данные МУРР указывали на возможное изменение структурных параметров вириона АВК, вызванное удалением N-доменов, при сохранении степени компактности частиц, и подтверждали высокую вариабельность структуры гибких потивирусов в отличие от палочковидных вирионов ВТМ [3]. Анализ подобных наноразмерных объектов важен для их биомедицинского и биотехнологического применения.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (18-04-00525а) и Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН в части проведения экспериментов МУРР.

1. Kezar, A., Kavcic, L., Polak, M., Novacek, J. et al. Structural basis for the multitasking nature of the potato virus Y coat protein // Sci. Adv., 2019, 5, eaaw3808, DOI: 10.1126/sciadv.aaw3808.

2. Svergun D., Barberato C., Koch M.H.J. CRY SOL – a Program to Evaluate X-ray Solution Scattering of Biological Macromolecules from Atomic Coordinates // J. Appl. Crystallogr., 1995, vol. 28, pp. 768-773, DOI: 10.1107/s0021889895007047.

3. Ксенофонтов А.Л., Петухов М.В., Прусов А.Н., Федорова Н.В., Штыкова Э.В. Характеристика вирионов и реполимеров белка оболочки вируса табачной мозаики в растворе методом малоуглового рентгеновского рассеяния // Биохимия, 2020, vol. 85 (3), pp. 360-368.

ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ДИМЕР РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА: ПРЕДСКАЗАНИЕ СТРУКТУРЫ И ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В АКТИВАЦИИ

Insulin Receptor Transmembrane Dimer: Structure Prediction and Possible Role in Activation

Кузнецов А.С., Ефремов Р.Г.

НИУ «Высшая школа экономики», г. Москва, РФ

ФГБУН Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, РФ, akuzneczov@hse.ru

Рецепторные тирозинкиназы (РТК) — один из важнейших классов мембранных белков, имеющих схожую структурную организацию и отвечающих за регуляцию жизнедеятельности живых клеток. Среди большого числа рецепторов они обладают наиболее простой структурой — их трансмембранный домен (ТМД) представлен одной альфа-спиралью. В то же время, семейство рецептора инсулина наиболее сильно выделяется среди остальных РТК, поскольку эти белки изначально существуют в мембране в форме ковалентно связанных димеров. Известно, что ТМД является функционально важным для большинства РТК, а изменение конформации трансмембранного димера отвечает за переход рецептора в активное/неактивное состояние. В случае рецептора инсулина до сих пор не было получено прямых структурных данных о его ТМД в димерном состоянии [1]. В то же время, последние результаты, полученные методом криоэлектронной микроскопии говорят в пользу формирования димера ТМД при активации рецептора инсулина [2]. Поскольку применение экспериментальных методов структурной биологии для изучения ТМД в липидном окружении затруднено, в настоящей работе применяли методы атомистического компьютерного моделирования: молекулярную динамику с последующим детальным анализом поведения ТМД, проводили оценку свободной энергии ассоциации белковых молекул в липидной мембране, анализ межмолекулярных контактов для выявления ключевых аминокислотных остатков, формирующих интерфейс димеризации. Также оценили влияние на ТМД внеклеточной и внутриклеточной части рецептора. Так, внеклеточный домен рецептора инсулина даже в неактивной форме демонстрировал предрасположенность к сближению примембранных участков, что свидетельствует в пользу димеризации ТМД. Внутриклеточный примембранный домен в комплексе с белком-субстратом IRS-1, в свою очередь, влиял на поведение ТМД в модельном эксперименте не оказывая, что позволило предположить одностороннюю передачу сигнала в молекуле рецептора, при поведении ТМД довольно независимо, что позволило рассматривать изолированные трансмембранные спирали в модельной мембране. С помощью двух независимых подходов получили набор возможных конформаций димера ТМД, среди которых выбрали наиболее стабильные в явно заданном липидном бислое. Для последних рассчитали свободную энергию ассоциации, что позволило выделить параллельную упаковку димера ТМД как наиболее вероятную. В то же время, наличие нескольких структур с близкими значениями свободной энергии ассоциации может говорить о сложном механизме активации данного рецептора, включающем несколько стадий. В то же время, полученные данные могут лечь в основу подхода к модулированию активности рецептора инсулина с помощью трансмембранных «пептидов-перехватчиков».

Работа выполнена в рамках Проекта «5-100» государственной поддержки ведущих университетов Российской Федерации.

1. Li Q., Wong Y.L., Kang C. Solution structure of the transmembrane domain of the insulin receptor in detergent micelles // *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, vol. 1838, pp. 1313-1321, DOI: 10.1016/j.bbammem.2014.01.005.

2. Uchikawa E., Choi E., Shang G., Yu H., Bai X.C. Activation mechanism of the insulin receptor revealed by cryo-EM structure of the fully liganded receptor-ligand complex // *Elife*, 2019, vol. 8, p. e48630, DOI: 10.7554/eLife.48630.

МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ ВТОРИЧНЫХ СПИРАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ

Methods for Quantifying the Chiral Secondary Spiral Structure of Proteins

Луценко А.О., Шпигун Д. К. Сидорова А.Э.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, sky314bone@mail.ru

Ранее на кафедре биофизики был разработан принципиально новый метод оценки знака хиральности вторичных спиральных структур белков [1, 2], достаточным условием которого является взаимное расположение α -углеродов - C $^{\alpha}$. Для определения направления закрутки спирали определялся угол между вектором направления

спирали и вектором суммы векторных произведений. Абсолютная величина суммы векторных произведений фактически являлась количественной оценкой закрученности спиральной структуры.

Данный метод был усовершенствован: между каждыми последовательными двумя опорными точками строится вектор, и для каждых трех последовательных векторов рассчитывается их смешанное произведение. Сумма всех полученных произведений (с учетом нормировки) берется в качестве меры хиральности. Полученная мера обладает следующими свойствами. Во-первых, результат смешанного произведения – число, знак которого определяет взаимное расположение векторов: для правой тройки векторов знак положительный, для левой – отрицательный. Во-вторых, все смешанные произведения не зависят друг от друга, поэтому любое изменение положения каждого атома влияет на несколько смешанных произведений (от 1 до 4 в зависимости от порядкового номера атом в цепи). Таким образом, поскольку общая мера хиральности является суммой всех смешанных произведений, она также изменится, но влияние смены положения одного атома на общую хиральность будет не слишком значительным.

Исследована возможность нормировки критерия хиральности (χ_{total}) с позиции соблюдения следующего принципа: поскольку хиральностью обладает физический объект, его мера хиральности должна стремиться к некоторому значению при увеличении числа опорных точек. Нормировка производилась следующим образом: каждое смешанное произведение нормировалось на пятую степень средней длины используемых в нем векторов.

В качестве экспериментальных данных были взяты файлы из банка данных PDB. Было рассмотрено 817 белков-ферментов, из них 154 оксидоредуктазы, 63 трансферазы, 147 гидролазы, 131 лиаза, 98 изомераз, 89 лигаз, 135 транслоказ. Анализ данных показал, что, как и ожидалось, альфа-спирали и спирали 3-10 в основном правые. В соответствии с вышеизложенным методом и посредством разработанной на кафедре биофизики компьютерной программы, написанной на языке Python 3.7 [3], построены карты хиральности вторичных спиральных структур белков. Полученные результаты подтвердили, что полученная мера хиральности линейно зависит от числа атомов в спирали.

Полученные результаты анализа правых и левых осей α -спиралей и спиралей 3-10, позволили подтвердить общую тенденцию знака хиральности правых и левых вторичных структур белков [4]. Анализ карт показал ожидаемую смену направления знака хиральности при переходе на следующий иерархический уровень. Достоверность карт подтверждается анализом реальных структур.

Принципиально новый метод количественной оценки хиральных структур носит общий характер и позволяет достаточно полно характеризовать вторичную структуру белков: тип и знак хиральности, а также получить информацию о их пространственной структуре.

1. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Kotov A.R., Tverdislov V.A., Ustinin M.N. Quantitative Criteria of Chirality in Hierarchical Protein Structures // Biophysics, vol. 64, № 2, pp. 155-166.

2. Сидорова А.Э., Левашова Н.Т., Луценко А.О., Зуев К.А. Автоволновая самоорганизация α -спиралей. Оценка хиральности вторичных структур // Ученые записки физического факультета Московского Университета, № 4.

3. The Protein Data Bank. URL: <http://www.rcsb.org/>

4. Tverdislov V.A., Malyshko E.V. On regularities in the spontaneous formation of structural hierarchies in chiral systems of nonliving and living matter // Physics Uspekhi, 2019, vol. 62, № 4, pp. 354-363.

МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ ТРЕТИЧНЫХ СУПЕРСПИРАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ

Methods for Quantifying the Chiral Tertiary Spiral Structure of Proteins

Луценко А.О., Шпигун Д.К. Сидорова А.Э.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, sky314bone@mail.ru

На основе ранее разработанного на кафедре биофизики принципиально нового метода оценки знака хиральности вторичных спиральных структур белков [1, 2] представлен новый метод количественной оценки хиральности третичных структур белков.

В качестве критерия для определения направления закрутки суперспирали был выбран угол между осью суперспирали и осями образующих ее спиралей. Ориентация этого угла относительно оси суперспирали (по часовой или против часовой стрелки) служит показателем для определения знака хиральности суперспирали. Для определения ориентации угла используется свойство векторного произведения образовывать правые тройки векторов.

Важной составляющей метода является нахождение осей спиралей способом, изложенным в предыдущих публикациях [1, 2]: в качестве условного центра витка был взят геометрический центр 4 последовательных атомов – C1, C2, C3, C4; повторяя операцию по последующим четверкам, получаем ось спирали. На первом этапе построения оси суперспирали строится виртуальная «средняя спираль» (не несет физического смысла, но необходима для дальнейших построений): геометрические центры первых, вторых и т.д. атомов каждой из спиралей образуют искомую «среднюю спираль», для которой строится ось. Угол между направлением оси

суперспирали (вектор vs) и направлениями осей составляющих спиралей (вектора $vc1$, $vc2$, $vc3$) берется в качестве критерия знака хиральности. Анализ показывает, что для левой суперспирали составляющие спирали будут отклонены в правую сторону относительно оси суперспирали, и угол между векторами vs и $vc1$ будет отсчитываться против часовой стрелки. Для правой суперспирали составляющие спирали будут отклонены в левую сторону, и угол будет отсчитываться по часовой стрелке. Таким образом, определение знака хиральности суперспирали сводится к определению направления угла между осью суперспирали и осью составляющей спирали. Для правых суперспиралей векторное произведение $vp1$ векторов vs и $vc1$ будет сонаправлено с вектором $vk1$ (угол между $vk1$ и $vp1$ – острый), для левых – противонаправлено вектору $vk1$ (угол между $vk1$ и $vp1$ – тупой). Величина угла между $vk1$ и $vp1$ определяется с помощью скалярного произведения: для тупых углов оно отрицательно ($\cos > 0$), для острых – положительно ($\cos < 0$).

Метод опробован на 30 суперспиралях [3]. Для каждой суперспирали был рассчитан средний косинус угла, средний угол и направление закрутки. Исследование показало, что подавляющее большинство суперспиралей имеет левую закрутку, что полностью согласуется с теорией хиральности белковых структур [4].

1. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Kotov A.R., Tverdislov V.A., Ustinin M.N. Quantitative Criteria of Chirality in Hierarchical Protein Structures // *Biophysics*, vol. 64, № 2, pp. 155-166.

2. Сидорова А.Э., Левашова Н.Т., Луценко А.О., Зуев К.А. Автоволновая самоорганизация α -спиралей. Оценка хиральности вторичных структур // *Ученые записки физического факультета Московского Университета*, № 4.

3. The Protein Data Bank. URL: <http://www.rcsb.org/>

4. Tverdislov V.A., Malyshko E.V. On regularities in the spontaneous formation of structural hierarchies in chiral systems of nonliving and living matter // *Physics Uspekhi*, 2019, vol. 62, № 4, pp. 354-363.

MODELING REACTION KINETICS OF ZNO MICROPARTICLES SYNTHESIZED VIA MICROWAVE: AB INITIO SIMULATION

Mendoza-Báez R., Morales M.A., Luna-Flores A., Agustin-Serrano R., Cervantes-Tavera A., Hernandez-Santiago A.A.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

Zinc oxide micro-particles were synthesized from zinc acetate dihydrate and sodium hydroxide in the presence of ethanol in aqueous medium, via a microwave-assisted hydrothermal method. The subjacent molecular mechanism of the experimental process was researched by ab initio calculations with the 3-21G basis set. SEM micrographs of the resulting microparticles show that ZnO has a branched morphology and the XRD pattern exhibit a crystal size to nanometric scale (31.3 nm), while that the micrometrical growth process could be explained by model of crystal phase field that reveal the mechanism of tridimensional dendritic solidification [1]. New micro and nanostructured materials based on metals and metal oxides are currently under investigation due to their wide applications such as photo-catalytic degradation [1], antibacterial compounds [2] and solar energy. Thus, many investigations have focused on knowing the critical variables on which the conformation of a certain morphology depends, for example, micro and nanoparticles in the form of tubes, wires, flowers, stars, discs, clusters, leaves, needles, boxes, walnuts, cubes, among other geometries. In particular, zinc oxide is an important material because it possesses excellent optical, electrical and microstructural properties [3], making it a good candidate for applications in visible and ultraviolet light emitters, transparent field-effect transistors, photodetectors, solar cells, sensors and piezoelectric devices. Calculations of the band gap energy, and quantum molecular descriptors such as chemical potential (μ), global hardness (η) and the electrophilicity index (ω) were obtained to study the chemical reactivity and stability of the molecules involved [4]. Time-Dependent Density Functional Theory (TD-DFT) has become the most widely-used theoretical approach to simulate the optical properties [6].

1. Morales M.A., Fernandez-Cervantes I., Agustin-Serrano R., Ruiz-Salgado S., Sampedro M.P., Varela-Caselis J.L., Rubio E. Ag₃PO₄ microcrystals with complex polyhedral morphologies diversity obtained by microwave-hydrothermal synthesis for MB degradation under sunlight // *Results in Physics*, 2019, vol. 12, pp. 1344-1356, DOI: 10.1016/j.rinp.2018.12.082.

2. Nair S., Sasidharan A., Divya Rani V.V., Menon D., Nair S., Manzoor K., Raina S. Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2008, vol. 20 (S1), pp. 235-241, DOI: 10.1007/s10856-008-3548-5.

3. Özgür Ü., Alivov Ya.I., Liu C., Teke A., Reshchikov M.A., Doğan S., Avrutin V., Cho S.-J. et al. A comprehensive review of ZnO materials and devices // *Journal of Applied Physics*, 2005, vol. 98 (4), p. 041301, Bibcode: 2005JAP....98d1301O, DOI: 10.1063/1.1992666.

4. Gazquez J.L. Perspectives on the density functional theory of chemical reactivity // *J. Mex. Chem. Soc.*, 2008, vol. 52, pp. 3-10.

5. Laurent A.D., Jacquemin D. TD-DFT benchmarks: A review // *International Journal of Quantum Chemistry*, 2013, vol. 113 (17), pp. 2019-2039, DOI: 10.1002/qua.24438.

**ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДНК ДЛЯ ПРОМОТОРНОЙ ФУНКЦИИ: АНАЛИЗ
ИСЧЕРПЫВАЮЩЕГО МУТАГЕНЕЗА ПРОМОТОРА БАКТЕРИОФАГА T7**
DNA Physics in Promoter Function: Exhaustive Mutagenesis Data Analysis for T7 Bacteriophage

Орлов М.А., Дজেядин Т.Р., Сорокин А.А.

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН «ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ, orlovmikhailanat@gmail.com

Прогресс высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот (Next Generation Sequencing, NGS) в отношении скорости, точности и снижения стоимости превзошел самые смелые ожидания. В результате исследователи располагают исключительно обширной информацией, ее обработка требует использования методов науки о данных ("data science"). При этом на первый план выходит автоматическое аннотирование геномов, т.е. предсказание положения генов и различных регуляторных областей. Если предсказание положения кодирующих последовательностей производится довольно успешно, то алгоритмы для обнаружения областей регуляции (прежде всего - промоторов) зачастую имеют неприемлемо низкие показатели качества. Это во многом связано с различиями функций регуляторных и кодирующих областей. Действительно, кодирующие участки генов участвуют в матричном синтезе за счет переноса информации, закодированной непосредственно в их первичной структуре (так называемое прямое кодирование, англ. "direct readout"). В то же время области регуляции реализуют свои функции в ходе ДНК-белковых взаимодействий, которые возможны благодаря определенным физическим и структурным параметрам ДНК. Такие свойства дуплекса также зависят от нуклеотидной последовательности, однако их кодирование носит непрямой характер (англ. "indirect readout") [1]. Требуется отдельного упоминания принадлежность физических и структурных свойств к генотипу либо фенотипу: подобные параметры участков генома напрямую определены последовательностью нуклеотидов (подобно генотипу). Однако функционально физика ДНК - отбираемый в ходе эволюции признак, не относящийся к последовательностям информационных биополимеров и не переходящих на следующие уровни потока экспрессии генов (РНК и белок).

Большое значение для изучения процесса инициации транскрипции имеют наиболее простые модельные системы. Среди них особенно выделяется бактериофаг T7 и пара фагоспецифичная T7-РНК-полимераза/ее промоторы. Такие промоторы разделяются на группы I-III в соответствии с временем активности в жизненном цикле и значительно отличаются функционально. Разница между функциональными свойствами промоторов T7 не может определяться имеющимися единичными заменами последовательности. Мы предполагаем ведущую роль физико-химических свойств ДНК. Ранее показано, что профили электростатического потенциала (ЭП) отличают классы промоторов T7 [2]. Аналогичные результаты получены для SIDD (stress-induced destabilization of the duplex) - уровня дестабилизации ДНК при суперспирализации [3]. Для решения подобных задач ценен мутационный анализ [4]. Используя доступную методику NGS, авторы получили 7847 вариантов промотора T7. Такие варианты имели от 1 до 10 замен; для них была оценена промоторная активность (как соотношение уровней транскрипта РНК и ДНК). Полученные данные подтвердили многие представления о значении отдельных положений промоторной последовательности и ее областей.

В данной работе мы провели дальнейший анализ данных [4], выявив согласованность в изменениях отдельных пар оснований промоторных последовательностей и функциональных областей промотора T7. В частности, выявлена высокая согласованность мутаций (их совместное присутствие) для петли специфичности ('specificity loop of binding region'). Область инициации (в которой происходит открытие дуплекса) характеризуется наименьшим количеством замен, которые при этом редко сочетаются между собой. Таким образом, внесенные замены отчетливо различаются между участками промотора, выполняющими различные роли.

1. Ryasik A., Orlov M., Zykova E., et al. Bacterial promoter prediction: Selection of dynamic and static physical properties of DNA for reliable sequence classification // *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 2018, № 1 (16), с. 1840003.

2. Kamzolova S.G., Beskaravainy P.M., Osypov A.A. et al. Electrostatic map of T7 DNA: comparative analysis of functional and electrostatic properties of T7 RNA polymerase-specific promoters // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2013, № 8 (32), с. 1184-1192.

3. Орлов М.А., Камзолова С.Г., Рясик А.А. и др. Stress-induced duplex destabilization (SIDD) profiles for T7 bacteriophage promoters // *Computer Research and Modeling*, 2018, № 6 (10), с. 867-878.

4. Komura R., Aoki W., Motone K. et al. High-throughput evaluation of T7 promoter variants using biased randomization and DNA barcoding // *PLOS ONE*, 2018, № 5 (13), с. e0196905.

**МНОГОФАЗНОЕ *AB INITIO* МОДЕЛИРОВАНИЕ А ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ ПО ДАННЫМ
МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ**
Multiphase *ab initio* Modeling of Potato Virus A from Small-Angle X-Ray Scattering Data

Петухов М.В.¹, Ксенофонтов А.Л.², Штыкова Э.В.¹

¹ Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, г. Москва, РФ,
maxim@embl-hamburg.de

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета
им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

Малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР) – структурный метод низкого (1-2 нм) разрешения, позволяющий изучать разупорядоченные и слабоупорядоченные объекты в широком диапазоне размеров и молекулярных масс. Метод активно используется для изучения строения биологических макромолекул в растворе, т.е. в условиях близких к физиологическим [1]. В последние десятилетия метод активно развивался благодаря появлению новых методов компьютерного моделирования для анализа данных МУРР [2,3]. При отсутствии априорной информации о структуре изучаемых макромолекул, МУРР позволяет определить максимальный размер частицы, ее радиус инерции, исключенный объем, а также молекулярный вес. Метод дает возможность *ab initio* определения формы как для однородных тел, так и для многофазных частиц в растворе. К последним относятся, например, такие многофазные системы, как вирусы, включающие в себя белки, липиды и генетический материал (РНК или ДНК).

В настоящей работе с помощью МУРР была определена структура низкого разрешения А-вируса картофеля (АВК). Растительные вирусы этого типа состоят в основном из белковой оболочки и РНК, то есть представляют собой двухфазную систему. Для многофазного моделирования была использована программа MONSA с помощью которой в свое время была изучена структура низкого разрешения рибосомы [4]. Построение двухкомпонентной модели АВК проводилось путем приближения кривой МУРР от вирусной частицы. При этом *ab initio* модель вируса была получена путем одновременного построения как общей формы, так и структуры отдельных компонентов (белок и РНК). Программа MONSA представляет частицу как коллекцию $M \gg 1$ плотно упакованных шариков внутри объема поиска, заданного пользователем. Для описания общей и внутренней структуры сложной частицы, каждый шарик может быть назначен либо принадлежащим растворителю (индекс = 0), либо одной из компонент (в нашем случае, индекс = 1 соответствует белку оболочки и индекс = 2 – вирусной РНК). Комплекс между белком и РНК поэтому представлен в низком разрешении двумя "фазами", а структура описывается строкой длиной M , содержащей фазовый индекс для каждого шарика (0, 1 или 2). Имитация отжига используется, начиная со случайной строки, для поиска модели, составленной из взаимосвязанных компактных фаз, которая минимизирует невязку χ^2 между кривыми рассеяния от модели и экспериментальной.

Двухфазная модель вируса АВК, разграничивающая белковую и РНК-части была построена следующим образом. В качестве объема поиска были использованы два цилиндра: внутренний сплошной с радиусом 32 Å и длиной 1200 Å, и внешний полый цилиндр с внешним радиусом 70 Å, внутренним радиусом 35 Å и длиной 1200 Å. В процессе моделирования шарики во внешнем цилиндре могли принимать фазовые индексы 1 и 0 (т.е. белок или растворитель), а во внутреннем 2 и 0 (РНК или растворитель). Таким образом, была обеспечена разумность модели, где белок оболочки оказывался на внешней поверхности, а РНК в глубине. Характерно, что шарики, соответствующие РНК, простираются вдоль всей оси цилиндра, что соответствует представлениям о структуре вируса. Двухфазная модель хорошо приближает экспериментальную кривую МУРР с $\chi^2 = 2,4$. Следует отметить, что брэгговский пик в районе $s = 0,19 \text{ \AA}^{-1}$ также очень хорошо воспроизведен. По всей видимости, наличие пика происходит вследствие регулярной спиральной упаковки белков оболочки, которая также отражается в модели.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (18-04-00525а) и Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН в части проведения экспериментов МУРР.

1. Svergun D.I., Koch M.H., Timmins P.A., May R.P. Small Angle X-ray and Neutron Scattering from Solutions of Biological Macromolecules. Oxford University Press, London, 2013.

2. Franke D., Petoukhov M.V., Konarev P.V., Panjkovich A., Tuukkanen A., Mertens H.D.T., Kikhney A.G., Hajizadeh N.R., Franklin J.M., Jeffries C.M., Svergun D.I. ATSAS 2.8: a comprehensive data analysis suite for small-angle scattering from macromolecular solutions // J. Appl. Crystallogr, 2017, vol. 50, pp. 1151-1158.

3. Petoukhov M.V., Tuukkanen A. SAS-based structural modeling and model validation. In Biological Small Angle Scattering: Techniques, Strategies and Tips (Chaudhuri B., Muñoz I.G., Qian S., Urban V.S. Eds.). 2017, chapter 6, pp. 87-105. Springer

4. Svergun D.I., Nierhaus K.H. // J. Biol. Chem., 2000, vol. 275, pp. 14432-14439.

МОДЕЛЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ КАК ПРОЦЕССА АВТОВОЛНОВОЙ САМООРГАНИЗАЦИИ ИЕРАРХИИ АКТИВНЫХ СРЕД

Model of Biological Evolution as a Process of Auto-wave Self-organization of Hierarchy of Active Media

Сидорова А.Э., Левашова Н.Т., Гараева А.Я., Твердислов В.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, sky314bone@mail.ru

Рассмотрена эволюционирующая биосфера как иерархия активных сред – трехмерная структура, объединенная сетью прямых и обратных связей (горизонтальных и вертикальных) [1]. Наличие в системе мутаций (пейскемекеров) – активаторов биологической эволюции определяет автокаталитический характер режимов, характерных для автоволновой самоорганизации. Вертикальный (между уровнями) поступательный перенос генов – в одной филогенетической ветви; межвидовой перенос генов – между уровнями иерархии; горизонтальный перенос генов между ветвями одного уровня. Условная величина прогрессивной биологической эволюции отражает динамику возрастания биологической сложности, бифуркационное расхождение признаков – переход в новое качественное состояние с новыми степенями свободы: каждый вышестоящий иерархический уровень характеризуется увеличением интенсивности информационных потоков и сложностью их коммутации. Движущей силой эволюции биосферы служит вертикально асимметричная иерархия распределенных активных сред – уровней иерархии, связанных с эволюционным формированием биологической сложности – от простейших до млекопитающих. В качестве иерархических уровней в модели рассмотрены три основные таксонометрические группы – прокариоты, одноклеточные и многоклеточные эукариоты [2], где каждый уровень, благодаря наличию распределенного потока энергии, является автоволновой системой.

На основании анализа рассмотренных данных построены графики динамики параметров генома и скорости мутаций в эволюционной линии прокариоты-одноклеточные-многоклеточных и рассмотрены механизмы, способствовавшие увеличению размера генома в процессе биологической эволюции. Анализ динамики параметров генома в эволюционной линии прокариоты-одноклеточные-многоклеточные показал наличие общих закономерностей: неуклонный рост размера и скорости мутаций генома, а также существенные отличия между параметрами генома и кодирующей части.

Начальные условия модели определяются временем появления вида *Pseudomonas aeruginosa* в группе прокариот. Точки бифуркации в модели связаны с появлением нового уровня биологической сложности – нового таксона и определяются параметрами наиболее раннего по времени появления вида в данном таксоне. Согласно рассмотренным данным, в модели размеры генома и его кодирующей части, а также скорости мутаций за поколение носят стохастический характер. В соответствии с рассмотренными уравнениями построены графики эволюционной динамики размера генома и кодирующей части для прокариотов, одноклеточных и многоклеточных. Показано, что по мере усложнения биологических структур для данной выборки организмов отмечается существенный рост размера генома (в среднем), и наибольшие изменения размера генома наблюдаются при переходе к многоклеточным, что связано с «разбуханием» не кодирующей части и снижением доли кодирующей части относительно размера генома. В целом, эти данные демонстрируют возрастание биологической сложности по мере формирования иерархий в процессе биологической эволюции.

Полученные результаты демонстрируют флуктуационно-бифуркационную траекторию эволюции как систему трансформации малых флуктуаций в гигантские в процессе самоорганизации и поэтапного отбора (на различных уровнях иерархии биологических структур) с последующей фиксацией полезных для видообразования мутаций – сформировавшихся устойчивых динамических состояний генома. Формирование иерархий связано с дифференциацией и специализацией структурных элементов системы и усложнением сети прямых и обратных связей, а самоорганизация охватывает не только уровни (таксоны), но и связи между ними.

1. Sidorova A.E., Tverdislov V.A. Self-Organization as the Driving Force for the Evolution of the Biosphere // Moscow university physics bulletin, 2012, vol. 68, № 5, pp. 405-410.

2. Lynch M. et al. Genetic drift, selection and the evolution of the mutation rate // Nature Reviews Genetics, 2016, vol. 17, № 11, p. 704.

MODELING AND COMPUTATIONAL SIMULATION OF PHOTOCATALYSIS OF A BISMUTH OXYALURER FOR AIR REMEDIATION

Solares E., Morales M.A., Luna-Flores A., Cervantes-Tavera A.M., Hernandez-Santiago A.A.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

In this research work, a reaction mechanism for ox-redox kinetics is proposed by interacting a hypothetical semiconductor with electromagnetic radiation in the ultraviolet. Subsequently, using the reaction mechanism obtained from nonlinear chemistry, a diffusion reaction system is deduced that presents Turing and Turing-Bogdanov-Takens

instability. Using the numerical method of functional difference implemented in python and its libraries [1-5], a three-dimensional (3D) computational simulation is obtained from the numerical solution of the spatial-temporal kinetic of ox-redox carry out during the air remediation. Photocatalysis process to the elimination of NO_x-type gases and its photo-oxidation mechanism can be carried out through the reaction of the polluting gases with the hydroxyl and superoxide radicals generated during the activation of the semiconductor. The mathematical model proposed for the description of reaction-diffusion due to Bismuth oxyhalide photocatalysts demonstrate that they are useful to exemplify the formation process of the compounds of interest. It can be seen how the hydroxyl potential (pOH) influences the reaction speed of the OH-NO_x reaction model, since it can be seen how the diffusion is carried out with greater speed for more basic potentials and a slower behavior for high potentials. Conversely, the reaction rate is carried out for basic pH and is slower for acids, given the inverse relationship between pH and pOH. Furthermore, the existence of spatial instabilities such as diffusion-induced instability (Turing instability) and a type of critical instability (Turing-Bogdanov-Takens) due to small perturbations of the uniform steady state, and the relationship between these instabilities are shown, showing that Turing space is the number space where the parameters of a model meet the given formations and the formation of spatial-temporal patterns is possible.

1. Shenoy S. Bismuth oxybromide nanoplates embedded on activated charcoal as effective visible light driven photocatalyst. 2020, DOI: 10.1016/J.CPLETT.2020.137435.
2. Bacha A., Nabi I., Fu Z., Li K., Cheng H. A comparative study of bismuth-based photocatalysts with titanium dioxide for perfluorooctanoic acid degradation. 2019, DOI: 10.1016/J.CCLET.2019.07.058.
3. Sagués F., Epstein I.R. Nonlinear chemical dynamics // Dalton transactions, 2003, vol. 7, pp. 1201-1217.
4. Turing A.M. The chemical basis of morphogenesis // Bulletin of mathematical biology, 1990, vol. 52 (1-2), pp. 153-197.
5. Landau R.H., Pi M.J., Bordeianu C.C. Computational physics: Problem solving with Python. John Wiley & Sons, 2015.

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСА ТРАНСМЕМБРАННЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ИНСУЛИН-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ С МИЦЕЛЛАМИ DPC МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЙЯНИЯ

Complex of Transmembrane Fragments of Proteins of the Family of Insulin-Like Receptors with DPC Micelles Studied by Small-angle X-ray Scattering

Сошинская Е.Ю.¹, Петухов М.В.¹, Бочаров Э.В.², Штыкова Э.В.¹

¹ Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, г. Москва, РФ, katuffus@rambler.ru

² Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, РФ

Малоугловые рентгеновские эксперименты на синхротронном источнике излучения были проведены с целью изучению доменных структур рецептора, подобного рецептору инсулина (IRR) и эпидермального фактора роста (ErbB). Конкретной задачей данной работы было исследование комплекса трансмембранных участков IRR и ErbB с мицеллами додецилфосфохолина (DPC), используемых в качестве моделей клеточных мембран. Для IRR использовался трансмембранный участок белка с аминокислотами 951-982, а для ErbB – 634-677.

Исследования с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния были выполнены на малоугловой станции EMBL-P12 BioSAXS накопительного кольца PETRAIII синхротрона DESY Европейской Лаборатории Молекулярной Биологии (EMBL) в Гамбурге, Германия. Обработка полученных данных и структурное моделирование проводилось с использованием обновленного программного пакета ATSAS 3.0 [1], в который была включена программа ELLIP [2], необходимая для моделирования структуры белково-мицеллярных комплексов.

Была получена серия кривых малоуглового рассеяния при соотношениях белок/DPC 1/60 и 1/200 в водных растворах. Трехмерные модели комплексов белок/DPC продемонстрировали плотное мицеллярное ядро с внедренными белковыми фрагментами. Отдельные участки белка располагались на поверхности, другие между молекулами DPC. При соотношении белок/DPC = 1/60 мицеллярные структуры были более рыхлыми, что позволяло белковым фрагментам более глубоко внедряться в мицеллы. В целом, предложенные подходы и их программное обеспечение позволили впервые получить и визуализировать структуру белково-мицеллярных комплексов, которые имитируют взаимодействие трансмембранных белков с клеточными мембранами.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (КОМФИ 17-00-00487).

1. Franke D., Petoukhov M.V., Konarev P.V., Panjkovich A., Tuukkanen A., Mertens H.D.T., Kikhney A.G., Hajizadeh N.R., Franklin J.M., Jeffries C.M., Svergun D.I. ATSAS 2.8: a comprehensive data analysis suite for small-angle scattering from macromolecular solutions // J. Appl. Crystallogr., 2017, vol. 50, pp. 1151-1158.

2. Петухов М.В., Конарев П.В., Дадинова Л.А., Федорова Н.В., Волинский П.Е., Свергун Д.И., Батищев О.В., Штыкова Э.В. Квазиатомистический подход к моделированию липосом // Кристаллография, 2020, т. 65 (2), с. 266-271.

МИГРАЦИЯ ОРЦИНОЛА ЧЕРЕЗ МОДЕЛЬНЫЕ МЕМБРАНЫ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНОЙ БАКТЕРИИ

Migration of Orcinol Through Model Membranes of the Gram-negative Bacteria

Терешкин Э.В., Терешкина К.Б., Крупянский Ю.Ф.

ФГБУН ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова, г. Москва, РФ, ramm@mail.ru

В работе исследуется влияние орцинола (3,5-дигидрокситолуола; 5-метилрезорцина) на мембраны грам-отрицательной бактериальной клетки и его миграция через мембраны и поры, образованные поринами. Орцинол – природное соединение, которое синтезируется многими видами лишайников и относится к алкилрезорцинам (1,3-дигидроксibenзолам с алкильными заместителями в положениях 4 или 5), представляющим собой отдельный подкласс алкилированных гидроксibenзолов (фенолов), обладающих широким спектром биологических функций и действующих как на клетки биологических организмов в целом, так и на отдельные клеточные структуры [1]. Орцинол и его производные используются в биотехнологии, химии, фармакологии и находят биологическое применение в составе веществ, обладающих антиоксидантной и антибактериальной активностью. В связи с этим исследование молекулярных механизмов миграции этих молекул внутрь бактериальной клетки и его влияния на мембранные структуры клетки является актуальным.

Методами молекулярной динамики исследуются модельные мембраны клеток *Escherichia coli* в присутствии орцинола. Оба слоя внутренней мембраны и внутренний монослой внешней мембраны смоделированы как смешанные слои 75% POPE / 25% POPG. Внешний монослой внешней мембраны состоит из липополисахаридов. Динамика систем изучена в программном комплексе Gromacs 2018. Силовое поле AMBER99-PARMBS1 было дополнено параметрами липидов, липополисахаридов и орцинола [2]. Постоянная температура 310 К поддерживалась стохастическим термостатом, давление – баростатом Парринелло-Рамана полуизотропным способом.

Исследована динамика модельных мембран в присутствии орцинола. С помощью потенциала средней силы определены профили свободной энергии миграции молекулы орцинола через канал порина внешней мембраны и внутреннюю мембрану (рис. 1).

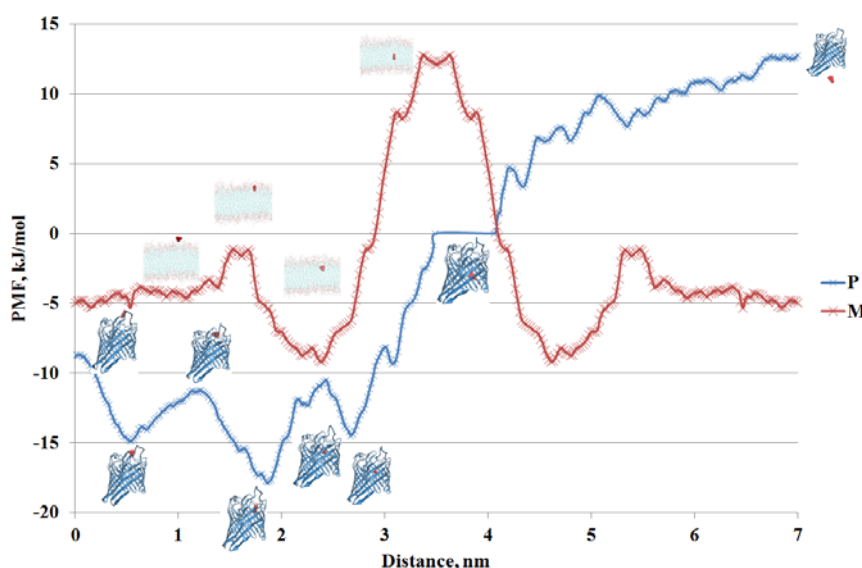


Рисунок 1. Профиль потенциала средней силы между молекулами орцинола и порина (синяя кривая); орцинола и мембраной (красная кривая)

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что орцинол легко проникает сквозь клеточные мембраны. Обнаружено, что основным механизмом миграции молекул орцинола через мембраны являются непосредственно бислои. Несмотря на то, что гидрофобный «хвост» в молекуле орцинола очень мал ($-\text{CH}_3$), тем не менее, он способен связываться с петлёй L6 порина и препятствовать свободному прохождению молекул орцинола через каналы. Показано, что молекулы орцинола могут как проникать внутрь клетки через мембраны и взаимодействовать с внутриклеточными структурами, так и легко встраиваться в бислои, изменяя их физико-химические параметры.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (Тема 0082-2019-0015, № АААА-А20-120031490003-7, Тема 0104-2019-0005). Расчеты проводились на высокопроизводительной вычислительной системе МВС-10П в Межведомственном суперкомпьютерном центре Российской академии наук (МСЦ РАН), проект СРН2.

1. Крупянский Ю.Ф., Нокс П.П., Лойко Н.Г. и др. // Биофизика, 2011, т. 56, № 1, с. 13-30.
2. Терешкина К.Б., Степанов А.С., Сеницын Д.О., Крупянский Ю.Ф. // Химическая физика, 2014, т. 33, № 7, с. 64-73.

ТЕМПЕРАТУРНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ФЛУКТУАЦИОННОЙ ПОДВИЖНОСТИ БЕЛКОВ DPS Temperature Dependence of the Fluctuation Mobility of DPS Proteins

Терешкина К.Б.¹, Терешкин Э.В.¹, Коваленко В.В.¹, Лойко Н.Г.², Чуличков А.Л.¹, Крупянский Ю.Ф.¹

¹ ФеГБУН ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова, г. Москва, РФ, ksenia.tereshkina@gmail.com

² ФИЦ Биотехнологии РАН

Белки DPS (DNA-binding protein from starved cells) обеспечивают внутриклеточную (био-) кристаллизацию нуклеоида бактерий в неблагоприятных условиях с образованием нанокристаллов DPS-ДНК непосредственно внутри живой клетки при различных видах стресса (голодание, температурный, окислительный и др.). Белки DPS и гомологичные им широко распространены у бактерий и архей, существенно увеличивая их выживаемость [2]. Они переводят нуклеоид в кристаллическое состояние с образованием устойчивых к агрессивным воздействиям клеточных форм.

В работе методом молекулярной динамики (МД) исследуются представители семейства белков DPS бактерий *Escherichia coli* (PDB ID: 6GCM), *Deinococcus radiodurans* (2C2F), *Mycobacterium smegmatis* (1UVH), *Kineococcus radiotolerans* (4A25). Использован программный пакет Gromacs 2018, силовое поле AMBER99-PARMBSC1, протокол МД см. [3]. Исследуется флуктуационная подвижность белков при температурах от 277 К до 369 К.

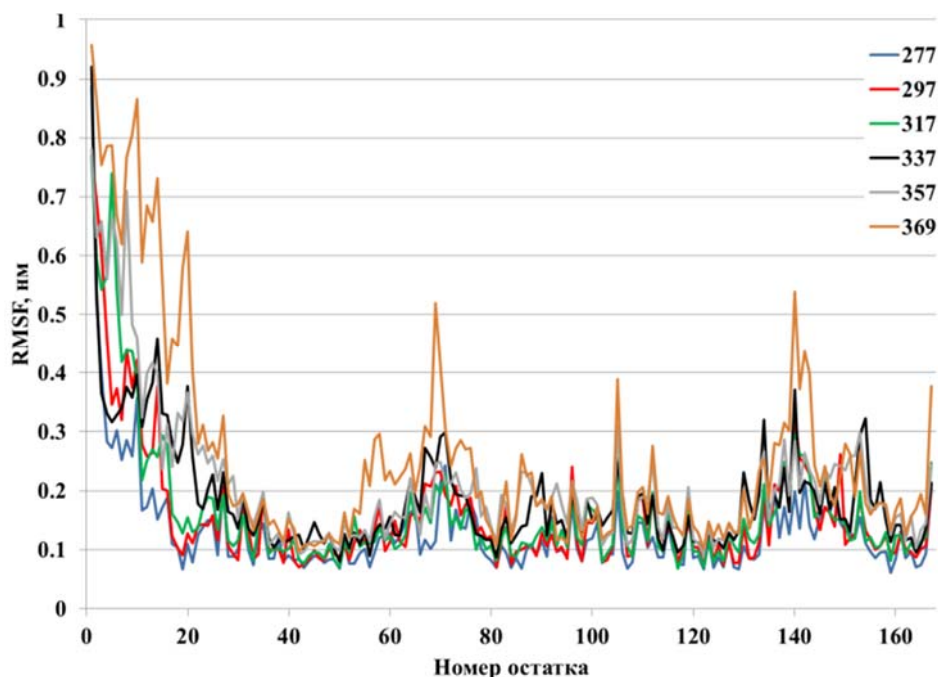


Рисунок 2. Среднеквадратические колебания атомов, усреднённые по каждому из остатков молекул DPS *E. coli* при разных температурах.

Показано, что при разных температурах наибольшую подвижность приобретают различные аминокислотные остатки. Это может оказывать влияние на формирование различных типов кристаллов DPS и DPS-ДНК. Флуктуационная подвижность аминокислотных остатков изменяется скачкообразно с увеличением температуры (рис. 1). Аминокислотные остатки Lys8, Lys10, расположенные в неупорядоченной части N-концов DPS *E. coli* и играющие основную роль в связывании молекул ДНК с молекулами DPS, наиболее подвижны при $T=44^{\circ}\text{C}$. Таким образом, формирование кристаллов ДНК-DPS [4] *E. coli* может быть наиболее благоприятно при этих температурах. Подвижность неупорядоченных регионов белка DPS *D. radiodurans* наиболее высока при $T=84^{\circ}\text{C}$, что может способствовать повышенной устойчивости данной бактерии при высоких температурах.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (Тема 0082-2019-0015, № АААА-А20-120031490003-7, Тема 0104-2019-0005). Расчеты проводились на высокопроизводительной вычислительной системе МВС-10П в Межведомственном суперкомпьютерном центре Российской академии наук (МСЦ РАН), проект СРН2.

1. Minsky A., Shimoni E., Frenkiel-Krispin D. Stress, order and survival // Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2002, vol. 3, № 1, p. 50, DOI: 10.1038/nrm700.
2. Smith J.L. The Physiological Role of Ferritin-Like Compounds in Bacteria // Critical Reviews in Microbiology, 2004, vol. 30 (3), pp. 173-185, DOI: 10.1080/10408410490435151.
3. Tereshkin E.V., Tereshkina K.B., Kovalenko V.V. et al. Structure of DPS Protein Complexes with DNA // Russ. J. Phys. Chem. B, 2019, vol. 13, pp. 769-777, DOI: 10.1134/S199079311905021X.
4. Tereshkin E., Tereshkina K., Loiko N., Chulichkov A., Kovalenko V., Krupyanskiy Y. // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2019, vol. 37 (10), pp. 2600-2607, DOI: 10.1080/07391102.2018.1492458.

МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ПРОЦЕССА ВОЗБУЖДЕНИЯ В АКТИВНЫХ ЦЕНТРАХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ БИОНАНОКОМПЛЕКСОВ

The Modeling of the Structure and the Excitation Process in the Active Centers of the Fermentative Bionanocomplexes

Уварова Л.А., Романова Е.Ю.

Московский государственный технологический университет "СТАНКИН", г. Москва, РФ, *uvar11@yandex.ru*

Из ферментативных бионаносистем комплексы, содержащие в активных центрах ионы d-металлов, представляют наибольший интерес, так как они участвуют практически во всех процессах жизнедеятельности. Обсуждается схема – модель структуры активных центров подобных бионаноконплексов выполненной на основе результатов физико-химических исследований их молекулярной структуры, которые показали много общего в этих структурах.

Активные центры, как известно, определяют функциональные свойства ферментативных систем. На основании квантово-химического подхода было выяснено, что стереохимия активных центров для разных бионаноконплексов отличается и определяется природой ионов d-металлов. Также на основе квантово-химического подхода был выяснен универсальный механизм функционирования активных центров и построены их квантово-химические модели, которые обсуждались в серии работ авторов (например, [1]).

Суть этих моделей: на основании теории кристаллического поля (ТКП) и теории поля лигандов моделируется электронная структура активных центров – молекулярные орбитали комплексов с распределенными на них электронами. При взаимодействии с субстратом активный центр переходит в возбужденное состояние. Поскольку активный центр – часть целого, т.е. всей молекулы в целом, возбуждение распространяется по всей структуре. Взаимодействие с субстратом можно считать получением системой информационного сигнала. Распространение возбуждения представляет собой волновой процесс, вызывающий в системе конформационные переходы и, в конечном итоге, удалению функционального электрона из системы с последующим ее возвращением в исходное состояние. Весь процесс в целом можно рассматривать как самосогласованный волновой процесс.

На основании сделанных выводов предлагается к обсуждению математическая модель процесса возбуждения с использованием волнового уравнения Колмогорова-Петровского-Пискунова [2].

1. Васильева Л.Ю., Уварова Л.А., Романова Е.Ю. Моделирование мезо- и нанообъектов в различных средах и полях. Тверь: ООО "Лаборатория деловой графики", 2010, 201 с.
2. Карлов Н.В., Кириченко Н.А. Колебания, волны, структуры. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2003, 496 с.

ВИЗУАЛЬНО-ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК ВОДНЫХ КЛАСТЕРНЫХ СТРУКТУР, НАХОДЯЩИХСЯ ВО ВНУТРЕННЕЙ ПОЛОСТИ D-FF НАНОТРУБОК

Visual-Differential Analysis of Structural Rearrangements of Aqueous Cluster Structures Located in the Internal Cavity of D-FF PNT

Филиппов С.В., Лихачёв И.В., Быстров В.С.

ИМПБ РАН – филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, г. Пущино, РФ, fsv141@mail.ru

Пептидные нанотрубки (ПНТ/PNT), благодаря присущему им широкому спектру свойств, важных для наноэлектроники, биомедицины, нанотехнологий, являются объектом всесторонних исследований. В ходе исследований самоорганизации дифенилаланиновых (FF) ПНТ (L- и D- хиральностей) было показано, что в их внутренней гидрофильной полости находится вода, труднообнаруживаемая рентгеновскими методами [1].

Для изучения структурных особенностей водных кластерных структур (ВКС) внутри полостей FF-нанотрубок было выполнено численное моделирование D-FF PNT, содержащих в полости канала воду [2]. Моделирование указало оптимальное количество молекул водного кластера на одну элементарную ячейку (два витка спирального участка), равное 21 молекуле воды [3]. Также в ходе оптимизации было отмечено итоговое изменение структуры кластера воды, напоминающее переход к спирали, подобной D-FF PNT.

Для лучшего понимания характера структурных перестроек ВКС, происходящих во внутренней полости канала D-FF в ходе оптимизации, был применён разработанный нами метод визуально-дифференциального анализа конформационных изменений биологических макромолекул [3]. Таким образом были получены идентифицирующие (ID) и «гипсометрические» проекции: внешней поверхности водных кластерных структур, расположенных внутри D-FF PNT, проекции внутренней поверхности канала D-FF PNT. Анализ ID-проекций водных кластеров в исходном (Init) и оптимизированном (Opt) состояниях выявил небольшое изменение (+0.568%) доступной поверхности атомов кислорода и атомов водорода (-0.68%). Визуальный анализ ID-проекций свидетельствует о заметных структурных перестройках структур кластера воды. Для их описания из трёх «гипсометрических карт» была составлена комплексная «топографическая карта» (рис. 1), показывающая области, участвующие в формировании водородных связей и характер изменений структур кластера воды.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проекты 18-07-00354-а и № 19-01-00519-а.

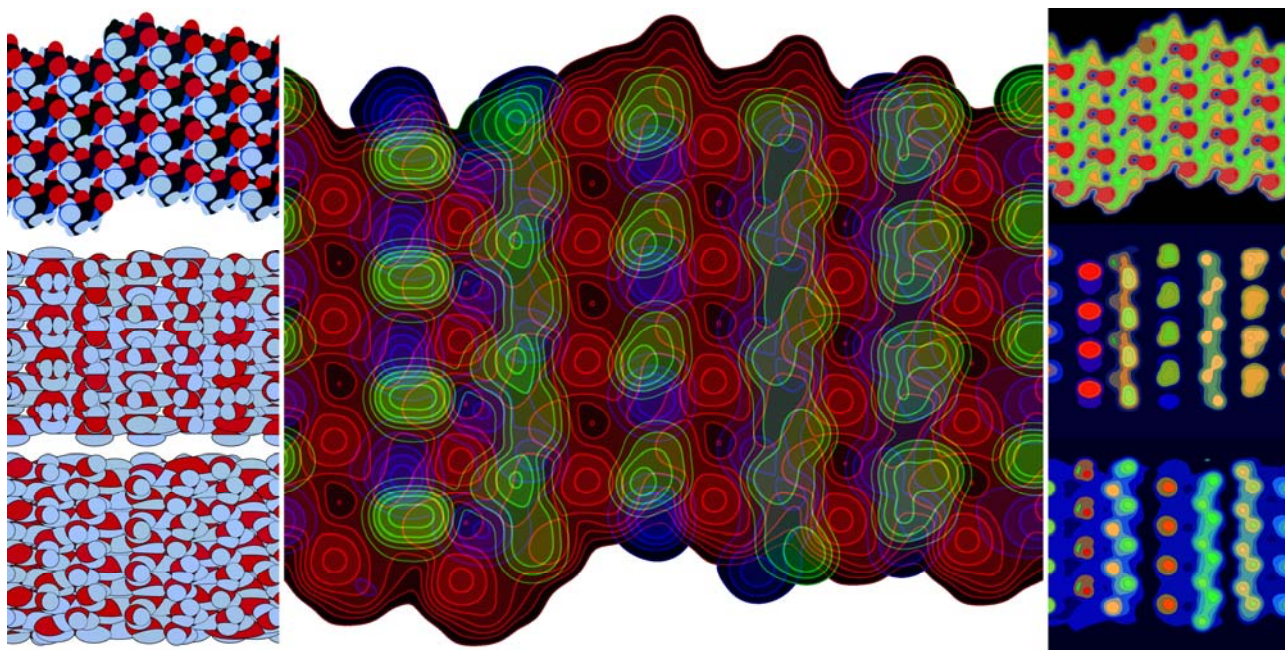


Рисунок 1. ID-проекции (слева), «гипсометрические» карты (справа): D-FF PNT и ВКС – исходной и оптимизированной (сверху-вниз). В центре – комплексная «топографическая карта» спроецированных поверхностей: D-FF (красные изолинии), ВКС Init (зелёные изолинии), ВКС Opt (синие изолинии)

1. Kim J., Han T.E., Kim Y. et al. Role of Water in Directing Diphenylalanine Assembly into Nanotubes and Nanowires // *Adv. Mater.*, 2010, vol. 22, pp. 583-587.
2. Bystrov V.S., Coutinho J., Zhulyabina O.A., Kopyl S.A., Zelenovskiy P.S., Nuraeva A.S., Tverdislov V.A., Filippov S.V., Kholkin A.L., Shur V.Ya. Modeling and physical properties of diphenylalanine peptide nanotubes, containing the water molecules // *Ferroelectrics*, 2020. – в печати.

3. Филиппов С.В., Быстров В.С. Визуально-дифференциальный анализ структурных особенностей внутренних полостей двух хиральных форм дифенилаланиновых нанотрубок // Биофизика, т. 65, № 3, с. 445-452, 2020, DOI: 10.31857/S0006302920030035.

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕЛЕКТИВНОСТИ ОКРУЖЕНИЯ ХРОМОФОР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО САЙТА МОЛЕКУЛЫ БАКТЕРИОРОДОПСИНА С ПОМОЩЬЮ АНАЛОГОВ РЕТИНОИДОВ Investigation of Microenvironment Selectivity in the Bacteriorhodopsin Chromophore Binding Site by Retinoid Analogs Application

Ходонов А.А.¹, Беликов Н.Е.¹, Лукин А.Ю.², Петровская Л.Е.³, Чупин В.В.⁴, Демина О.В.¹

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, khodonov@gmail.com

² МИРЕА – Российский технологический университет, г. Москва, РФ;

³ Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, РФ

⁴ Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный, РФ

Ретиналь-содержащие белки играют ключевую роль в ряде важнейших биологических и физиологических процессов – в зрении и дифференцировке тканей у высших животных и в светозависимом транспорте протонов, ионов хлора или фототаксисе у некоторых видов микроорганизмов.

В следующем году исполняется 50 лет с момента открытия Д. Остерхельтом и В. Стокениусом уникального биофотохрома – светозависимой протонной транслоказы – бактериородопсина из экстремально галофильной бактерии *Halobacterium salinarum* [1]. Этот хромопротеин является одним из первых успешных примеров биологического фотохромного материала, разработанного самой природой. Один из подходов к исследованию взаимосвязи структура-функция в этом и во многих других ретиналь-содержащих белках заключается в замене природного хромофора на его аналоги и всестороннее изучение свойств новых гибридных продуктов. Цель настоящей работы состояла в разработке и осуществлении на практике комплексного подхода к исследованию структурно-функциональных отношений в микробных родопсинах путем химической модификации функционально значимых элементов структуры молекулы хромофорной группы. Для ее реализации необходимо решение следующих задач, заключающихся: 1) в поиске и создании новых синтетических подходов к разнообразным модификациям молекулы ретиноидов; 2) в исследовании физико-химических свойств и спектральных характеристик синтезированных соединений; 3) в изучении влияния разнообразных модификаций хромофорной группы бактериородопсина на его фотохимические свойства и протонный транспорт в пурпурных мембранах *H. salinarum* и в моделировании пространственных ограничений центра связывания хромофора этого белка.

На основе результатов собственных исследований и литературных данных была создана база данных “Properties of artificial bacteriorhodopsin analogs. From 1975 to 2019”, версия 2, 2020, суммирующая сведения о способности апобелка (бактериоопсина – БО) к образованию ковалентных и нековалентных комплексов с различными полиеновыми соединениями и об их фотохимических и функциональных свойствах. Она включает перечисленные ниже структурные, спектральные и фотохимические параметры и другие сведения о продуктах взаимодействия более 440 полиеновых соединений с бактериоопсином [2]. Глубина охвата литературы по базам Reaxys (Elsevier) и SciFinderⁿ (CAS on line, ACS) и патентным источникам (USPTO; ЕРО и др.) 49 лет (1971-середина 2020 гг.). Структуры всех полиеновых соединений были классифицированы на основании их отличий от молекулы природного хромофора (*all-E*-ретинала); были рассмотрены следующие серии аналогов ретинала (А-К), отличающиеся определенными типами функционально значимых элементов структуры от молекулы природной хромофорной группы. Основными дескрипторами являлись: структура конкретного тестируемого изомера полиенового соединения; λ_{max} исходного соединения; моделей (оснований Шиффа с *n*-бутиламином в метаноле, в непротонированной и протонированных формах); нековалентного комплекса с бактериоопсином; пигмента в водном буфере (адаптированная к свету и темноте (LА и DA-формы); наличие и тип фотоцикла, его основные интермедиаты; эффективность протонного транспорта; изомерный состав хромофора (соотношение *all-E*- и *13Z*-изомеров); “опсиновый” сдвиг; устойчивость продуктов взаимодействия к гидроксилламину и *all-E*-ретиналю и прочие дополнительные данные.

Сравнительный анализ нашей базы данных, показал, что, диверсифицируя природу хромофора, можно напрямую изменять λ_{max} в спектрах аналогов бактериородопсина в довольно широком интервале (от 412 до 830 нм), хотя далеко не все эти новые пигменты способны к циклическим фотохимическим реакциям.

В рамках модификации определенного типа функционально значимых элементов структуры, взаимосвязь между положением λ_{max} в зависимости от характера хромофора может быть описана линейными уравнениями регрессии в координатах (Y) – $\lambda_{\text{max}}^{\text{SB}}$ или (SBH⁺, P^{LA}) / (X) – λ_{max} (СНО). Эти данные могут быть использованы для прогноза спектральных свойств новых аналогов бактериородопсина.

Работа была частично поддержана РФФИ (проекты № 20-03-00139, №17-00-00165 комфи).

1. Oesterhelt D., Stoekenius W. Rhodopsin-like protein from purple membrane of Halobacterium halobium // Nature (New Biologist), 1971, vol. 233, pp. 149-151, DOI: 10.1038/newbio233149a0.
2. Khodonov A.A., Belikov N.E., Demina O.V. Properties of artificial bacteriorhodopsin analogs. From 1975 to 2019. Editors: Chupin V.V., Varfolomeev S.D. Version 2, 2020. IBCP/MIPT, Moscow, 186 p. http://biochemphysics.ru/assets/upload/documents/docs/BRDT_v2.pdf.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ПРЕДЕЛЬНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Seasonal Dynamics of Limit Productivity of Microalgae Culture

Чекушкин А.А., Лелеков А.С., Геворгиз Р.Г.

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,
chekushkin.78@mail.ru

Исследования закономерностей, связывающих эффективность и скорость фотобиосинтеза микроводорослей являются одной из актуальных задач в современной физиологии фотоавтотрофных организмов. В промышленных масштабах микроводоросли, как правило, выращивают в открытых фотобиореакторах в условиях естественного освещения, что обуславливает суточную ритмику роста и биосинтеза. Севастополь из всех регионов Российской Федерации является одним из перспективных по световым и температурным условиям для производства биомассы различных видов микроводорослей. Продуктивность культуры определяется множеством факторов, основным из которых являются световые условия. Исследование суточной динамики продуктивности в зависимости от обеспеченности световой энергией является первым шагом для разработки теоретических основ роста микроводорослей в условиях естественного освещения.

Цель работы – определение сезонного изменения предельной продуктивности культуры микроводорослей в условиях естественного освещения.

Работа выполнялась на базе отдела биотехнологий и фиторесурсов ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского». Для определения количества солнечной энергии ФАР использовали автоматический датчик измерения освещённости на базе платформы Arduino [1]. Основным элементом датчика являлся CdS фоторезистор GL12516, максимум поглощения которого световой энергии приходился в зелёную область спектра. Датчик осуществлял постоянное круглогодичное измерение освещённости на поверхности бассейна с культурой микроводорослей. Исходными данными для расчётов количества энергии ФАР являлись показания датчика и спектры солнца при различной его высоте над горизонтом [2]. Расчёты выполнялись с использованием электронной таблицы и математического графического пакета Scidavis.

Датчик регистрировал значения внешней освещённости с интервалом 10 мин с 16 сентября 2019 г по 31 мая 2020 г. Для определения количества энергии ФАР, приходящейся на поверхность бассейна с микроводорослями, необходимо перевести величины освещённости в энергетические единицы. Для этого рассчитывали отношение величин полной и определяемой датчиком световой энергии. Вычисляли долю энергии, которая приходится на каждую длину волны, которую умножали на соответствующее значение относительной видности. Таким образом, определяли количество световой энергии, регистрируемой датчиком. Для расчёта относительного количества энергии в синем, зелёном и красном диапазонах солнечного спектра находили сумму долей энергии для каждого диапазона. Для определения предельной продуктивности за каждый месяц учитывали среднее значение КПД фотобиосинтеза 5,58 %, которое умножали на суммарное количество энергии за данный месяц (с учётом полного поглощения) и делили на среднюю калорийность биомассы микроводорослей 20,86 кДж [3]. Результаты расчётов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Сезонное изменение суммарной энергии ФАР и предельной продуктивности культуры микроводорослей

	октябрь	ноябрь	декабрь	январь	февраль	март	апрель	май
E_s , МДж/м ²	177,7	101,4	69,9	83,7	134,8	232,7	304,2	321,7
P , г/м ²	491	305	193	231	372	643	840	855

Доля энергии в трех основных цветовых диапазонах заметно отличалась в синей и красной области спектра для максимальной и минимальной высоты солнца над горизонтом. Так в мае соотношение синий : зелёный : красный свет составляло 26 : 29 : 45 %, а в декабре – 17 : 28 : 55 %. Из этого следует, что в декабре количество энергии в красной области спектра выше, что окажет на влияние на продукционные и биохимические характеристики культуры микроводорослей.

Работа выполнена в рамках госзадания по теме НИР ФИЦ ИнБЮМ № 0828-2018-0004.

1. Чекушкин А.А., Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. Моделирование суточных колебаний освещённости в районе г. Севастополя // Актуальные вопросы биологической химии и физики, 2018, т. 3, № 3, с. 547-552.
2. Клешнин А.Ф. Растения и свет. М.: Изд-во Академия Наук СССР, 1954. 459 с.
3. Белянин В.Н., Сидько Ф.Я., Тренкеншу А.П. Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей. Новосибирск: Наука, 1980, 136 с.

НЕОДНОЗНАЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОРМЫ ПО ДАННЫМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ: ПОИСК ОПТИМАЛЬНОЙ СТРУКТУРНОЙ МОДЕЛИ ИНСУЛИН-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА IRR

Ambiguity in Shape Determination According to Small Angle X-ray Scattering Data: Search for Optimal Structural Model of Insulin Receptor Related Receptor IRR

Штыкова Э.В., Петухов М.В.

Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, г. Москва, РФ, shtykova@crys.ras.ru

Малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР) является универсальным дифракционным методом структурной диагностики, который демонстрирует стремительное развитие в последние десятилетия. МУРР позволяет проводить трехмерный анализ четвертичной структуры белков по одномерным профилям рассеяния. Однако решение обратной задачи, т.е. однозначное восстановление трехмерной структуры по экспериментальным данным МУРР, в общем случае, некорректно, поскольку разные формы теоретически могут обеспечить один и тот же профиль рассеяния. Тем не менее, для монодисперсных систем идентичных частиц интенсивность МУРР непосредственно связана со структурой рассеивающих объектов, что дает уникальную возможность определения их формы и размера, а в ряде случаев и внутреннего строения с разрешением порядка 1 нм, что уменьшает, но не снимает проблему неоднозначности решения обратных задач. В настоящей работе представлены различные подходы к анализу и моделированию данных МУРР на примере исследования рецептора подобного рецептору инсулина (IRR) с целью поиска оптимальной, то есть наиболее биологически релевантной структуры этого белка. В том числе рассматриваются возможности имеющихся компьютерных программ, начиная от определения общих структурных параметров и методов *ab initio* до моделирования твердыми телами и гибридных подходов.

Серия малоугловых экспериментов по исследованию структуры IRR в растворе была проведена на станции BioSAXS P12 в EMBL (DESY, Гамбург) [1]. При этом измерения проводились с использованием онлайн эксклюзионной гель-хроматографии, чтобы избежать влияния возможной полидисперсности и/или разделить отдельные олигомерные состояния белка. Для обработки и интерпретации полученных данных использовался программный комплекс ATSAS [2], который содержит различные инструменты для анализа кривых рассеяния *a priori* и последующего трехмерного моделирования.

В результате были рассмотрены пути уменьшения потенциальной неоднозначности решения задачи восстановления трехмерной структуры рассеивающих объектов по данным МУРР с помощью наложения определенных ограничений для получения адекватных структурных моделей на разных диапазонах разрешения.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (КОМФИ 17-00-00487).

1. Blanchet C.E., Spilotros A., Schwemmer F., Graewert M.A., Kikhney A.G., Jeffries C.M., Franke D., Mark D., Zengerle R., Cipriani F., Fiedler S., Roessle M., Svergun D.I. Versatile sample environments and automation for biological solution X-ray scattering experiments at the P12 beamline (PETRA III, DESY) // J. Appl. Cryst., 2015, vol. 48 (2), pp. 431-443.
2. Franke D., Petoukhov M.V., Konarev P.V., Panjkovich A., Tuukkanen A., Mertens H.D.T., Kikhney A.G., Hajizadeh N.R., Franklin J.M., Jeffries C.M., Svergun D.I. ATSAS 2.8: a comprehensive data analysis suite for small-angle scattering from macromolecular solutions // J. Appl. Crystallogr., 2017, vol. 50, pp. 1151-1158.

MULTILAYER PERCEPTRON NEURAL NETWORK FOR THE PREDICTION OF THE RIPENING STAGES OF FRUITS AND VEGETABLES

Hernandez-Aguirre J.A., Arzola-Flores J.A., Vidal-Robles E., Saviñon-Flores M.F., Maldonado-Garcia A., Guarneros-Bejarano G., Rojas-Rodriguez J.F., Hernandez Santiago A.A.
Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

In this work, we propose the implementation of Machine Learning techniques for the classification of fruits and their ripening days using photographs of them. As a supervised learning method, a multilayer perceptron neural network was used. The results obtained from the neural network were compared with the K-nearest neighbors method through a Bayesian t-test, finding that the neural network is a better classifier of the type of fruit. Finally, Hierarchical Clustering was used to determine the ripening days of the fruits. The results obtained in this work show that it is possible to generalize the neural network to improve its precision by increasing the variety of fruits and the size of the database. From the models compared in this work, we can conclude that the MLP is a better classifier than the KNN method, so it is possible to generalize the MLP method by increasing the variety of fruits and vegetables and incrementing the number of photographs. We can conclude that unsupervised learning, precisely the Hierarchical Clustering method, can determine the stages of fruit ripening using only photographs. With the results obtained in this work, it is clear that it is possible to implement Machine Learning tools to classify between different types of fruits and their ripening stages, which may allow creating a mobile application that processes the photographs of the fruits in real-time, thereby decreasing the cost of food shipping losses.

1. Halonen N.J., Palvölgyi P.S., Bassani A., Fiorentini C., Nair R., Spigno G., Kordas K. Bio-based smart materials for food packaging and sensors – a review // *Frontiers in Materials*, 2020, vol. 7, p. 82, DOI: 10.3389/fmats.2020.00082.
2. Bouzembrak Y., Klüche M., Gavai A., Marvin H.J. Internet of Things in food safety: Literature review and a bibliometric analysis // *Trends in Food Science & Technology*, 2019, vol. 94, pp. 54-64, DOI: 10.1016/j.tifs.2019.11.002.
3. Camaréra S. Artificial Intelligence in the design of transition to Sustainable Food Systems // *Journal of Cleaner Production*, 2020, p. 122574, DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.122574.
4. Godec P., Pančur M., Ilenič N., Čopar A., Stražar M., Erjavec A., Žagar L. Democratized image analytics by visual programming through integration of deep models and small-scale machine learning // *Nature communications*, 2019, vol. 10 (1), pp. 1-7, DOI: 10.1038/s41467-019-12397-x.
5. Jolliffe I.T., Cadima J. Principal component analysis: a review and recent developments // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2016, vol. 374 (2015), p. 20150202, DOI: 10.1098/rsta.2015.0202.
6. Corani G., Benavoli A. A Bayesian approach for comparing cross-validated algorithms on multiple data sets // *Machine Learning*, 2015, vol. 100 (2-3), pp. 285-304.
7. Demsar J., Curk T., Erjavec A., Gorup C., Hocevar T., Milutinovic M., Mozina M., Polajnar M., Toplak M., Staric A., Stajdohar M., Umek L., Zagar L., Zbontar J., Zitnik M., Zupan B. Orange: Data Mining Toolbox in Python // *Journal of Machine Learning Research*, 2013, vol. 14, pp. 2349-2353, DOI: 10.5555/2567709.2567736.

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

МИКРОВОЛНОВЫЕ ИЗЛУЧЕНИЯ В ОНКОЛОГИИ: О ВОЗМОЖНОСТИ ТОРМОЖЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО МИТОЗА

Microwave Radiations in Oncology: About Possibility of Inhibition of Malignant Mitosis

Авакян С.В.¹, Баранова Л.А.²

¹ ВНИЦ «Государственный оптический институт им. С.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург, РФ

² Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, г. Санкт-Петербург, РФ, l.baranova@mail.ioffe.ru

Рассмотрены известные экспериментальные результаты по влиянию на митоз раковых клеток двух факторов:

- искусственно создаваемой невесомости;
- потока микроволнового излучения из ионосферы Земли.

Представлена интерпретация этих результатов в рамках супрамолекулярной физики. Рассмотрена генерация надмолекулярных структур (водосодержащих ассоциатов) в живом организме с учётом:

- переноса протона в акте водородной связи из-за высокой степени сродства к протону у молекул воды;
- поглощения кванта микроволн электроном на ридберговской орбитали, возбуждённым в это состояние при его захвате в процессе нейтрализации заряда, принесённого протоном, что обеспечивает рост выхода стабильных водосодержащих ассоциатов;
- генерации индуцированного микроволнового излучения в среде живого организма, образующего в нём направленное биополе;
- образования, в процессах столкновений с водосодержащими ассоциатами, высоковозбуждённых ридберговских молекул биоматериалов живой среды.

Основы такого нашего подхода к биофизическим проблемам изложены в [1-4]. Это физика надмолекулярных структур (кластеров – ассоциатов), в эволюции которых к сложным формам участвует внешний источник микроволнового излучения в диапазоне от 1 мм до 10 дм. Первичным актом ассоциатообразования в биосреде является перенос протона от одной молекулы воды к другой из-за высокой величины её сродства к протону [4]. Положительный заряд образующегося комплексного иона нейтрализуется в течение ~10-12 с. с захватом электрона на высоковозбуждённый электронный (ридберговский) энергетический уровень (выше ~10 эв). Тонкая структура каждого ридберговского уровня с главным квантовым числом n состоит из подуровней с различными величинами орбитального квантового числа l , значения которого лежат в интервале от нуля до $n-1$. Электрические дипольные переходы (с поглощением и излучением кванта) между подуровнями тонкой структуры разрешены для $\Delta l = \pm 1$. При сравнительно небольших n длины волн этих переходов располагаются в микроволновом диапазоне, а вероятности ассоциатообразования сильно зависят от величины l и значительны при $l > 2$, поскольку при этом орбита электрона перестает заходить в ионный остов, когда возможен развал образующегося ассоциата.

В соответствии с целями данной работы мы учитываем результаты известных экспериментов [5], в которых при оптико-биологических исследованиях обнаружено излучение органов живых организмов, сопровождающее процесс деления клеток – «митогенетические лучи», прежде всего в УФ- области спектра, а затем и в видимом и ИК-диапазонах [6]. Природа этих излучений, интерпретируемая как проявление биополя, до сих пор вызывала вопросы. В то же время они участвуют в таком важнейшем процессе регенерации живой ткани, как «формообразование» [7].

Обсуждены предложения по медицинскому применению облучения опухолей потоком микроволн с пространственно-временной модуляцией с учётом аппаратных возможностей [8], в целях возможного торможения злокачественного деления клеток.

1. Avakyan S.V. Supramolecular physics of the ionosphere - biosphere links // In: Proc. of the 11th International School and Conference “Problems of Geocosmos” (Oct. 03-07, 2016, St. Petersburg, Russia). Eds. by V.S. Semenov, M.V. Kholeva, S.V. Apatenkov, N.Yu. Bobrov, A.A. Kosterov, A.A. Samsonov, N.A. Smirnova, T.B. Yanovskaya. SPbSU. Saint Petersburg. VVM Publ., 2017, pp. 180-186.

2. Авакян С.В., Супрамолекулярная физика окружающей среды: климатические и биофизические эффекты // Вестник РАН, 2017, т. 87, № 5, с. 458-466.

3. Авакян С.В., Баранова Л.А. Влияние электромагнитного излучения окружающей среды на ассоциатообразование в водных растворах // Биофизика, т. 64, № 1, с. 12-20.

4. Avakyan S.V., Baranova L.A. Molecular protonics and supramolecular chemistry, physics and biophysics. Invited Lecture // Book of Abstracts of XXI Mendeleev Congress on general and applied chemistry, Symp. of UNESCO “Self-Assembly and Supramolecular Organization”, Saint Petersburg, 2019, vol. 6, p. 216.

5. Гурвич А.Г. Принципы аналитической биологии и теории клеточных полей, М. Наука. 1991, 288 с.
6. Самойлов В.О. Медицинская биофизика: Учебник для ВУЗов. 3-е изд, СПб., СпецЛит (ВМА). 2013, 591 с.
7. Галль Л.Н. Физические принципы функционирования материи живого организма. СПб., Изд-во Полит. Университета, 2014, 399 с.
8. Авакян Р.С., Габриэлян Г.Г., Мадосян Л.В., Меликян Р.Л., Таубе А.Л., Тевосян А.Л. Электронная промышленность, 1990, № 12, с. 30.

РАЗРАБОТКА ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ БИОСЕНСОРОВ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Development of High-sensitive Biosensors for Early Diagnostics of HCV

Антипчик М.В.^{1,2}, Синицына Е.С.¹, Поляков Д.С.³, Реут Е.², Сырицкий В.², Коржикова-Влах Е.Г.¹

¹ Институт высокомолекулярных соединений РАН, г. Санкт-Петербург, РФ, volokitinamariya@yandex.ru

² Таллинский технический университет, г. Таллин, Эстония

³ Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург, РФ

На сегодняшний день гепатит С является одним из наиболее распространенных заболеваний печени. Заболевание, как правило, протекает в несколько стадий. При этом начальную стадию, когда своевременное лечение может привести к полному выздоровлению, практически невозможно диагностировать существующими методами. Таким образом, ранняя диагностика гепатита С представляет собой чрезвычайно важную проблему современного здравоохранения. Основной задачей данного проекта являлась разработка тест-систем на основе новейших современных материалов, позволяющих проводить прямую высокочувствительную диагностику вируса гепатита С на ранних стадиях заболевания.

В рамках данной работы были разработаны биосенсоры для прямого обнаружения антигена вируса гепатита С: белка вирусной оболочки Е2. В качестве элементов молекулярного распознавания биосенсора были протестированы рекомбинантный LEL-фрагмент биологического клеточного рецептора CD81 и два коротких синтетических пептида, имитирующих фрагмент LEL-последовательности CD81 (линейный и кольцевой пептиды), способных специфично связываться с Е2. Для этого выбранные лиганды были иммобилизованы на поверхность SPE электрода, используемого в качестве платформы биосенсора. Параметры иммобилизации, такие как концентрация лиганда и время иммобилизации, были оптимизированы для каждого биосенсора.

Количественное связывание белка Е2 с иммобилизованными лигандами оценивали методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии. Было обнаружено, что все три типа лиганда демонстрируют сходное сродство к вирусному белку Е2 в процессе связывания. В результате исследований линейный пептид LEL-последовательности CD81 был выбран в качестве рабочего лиганда как наиболее дешевый и легкодоступный вариант для получения биосенсоров.

Разработанные биосенсоры на основе линейного пептида были способны обнаруживать Е2 при значении LOD $3,96 \times 10^{-6}$ мг/мл и демонстрировали селективность по отношению к Е2 в присутствии побочных белков. Кроме того, было установлено, что биосенсоры эффективно детектируют Е2, входящий в комплекс модельных вирусных частиц, состоящих из наночастиц (50 нм) на основе поли(молочной кислоты) с иммобилизованным на их поверхности Е2, как в 0,01 м растворе PBS (рН 7,4), так и в искусственной плазме крови.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №19-73-00131).

СОЛИТОННАЯ ДОСТАВКА ВОЗБУЖДЕНИЙ И СТИМУЛИРОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ

Soliton Excitation Delivery and Stimulation of Biochemical Reactions for Medical Purposes in Living Systems

Аширметов А.Х.¹, Искандарова Ф.², Оксенгендлер Б.Л.³

¹ Институт гематологии МЗ РУз, г. Ташкент, Узбекистан

² Центр профилактики чумы, карантинных и особо опасных инфекций, г. Ташкент, Узбекистан

³ Институт химии и физики полимеров АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан, oksengendlerbl@yandex.ru

Способность солитона перенести свой нониус на далекие расстояния без затухания может быть использована для катализа определенного класса реакций, в том числе спиновой химии. Рассмотрим составные компоненты этого нового электрон-спин-ионного процесса [1] (рис. 1).

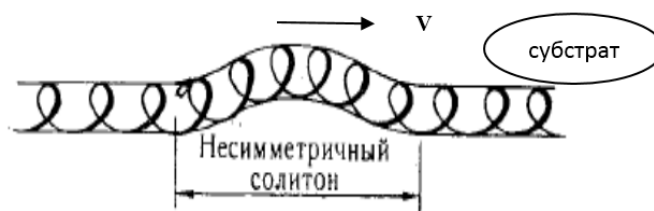


Рисунок 1. Распространение несимметричного солитона по α -спиральной белковой молекуле (слева направо)

Рассмотрим следующую структуру: пусть возбуждается солитон на левом конце полимерной цепи с электронной структурой полупроводника и молекулами-реагентами (субстрат) на отдаленном правом конце. Возбуждение солитона с определенной амплитудой позволяет снабдить нониус солитона энергией, которая заключена в различных трех типах квазицатиц: при малой амплитуде – клубок фононов, при больших амплитудах – состояние одиночного спина, при еще больших амплитудах – вибронное возбуждение с нулевым спином. В процессе движения нониуса слева направо к субстрату при попадании квазицатиц в зону биохимической реакции, путем безызлучательных переходов сбрасывается энергия в молекулярную структуру субстрата. Таким образом, происходят различные типы биохимических превращений, которые удастся уложить в теоретические схемы моделей Ландау-Зинера-Штукельберга [2], соответствующие как «обычной», так и спиновой химии. В качестве интересного примера можно упомянуть реакцию спинового катализа, реализуемую путем flip-flop процесса между приближающимся нониусом, соединенным со спином, и триплетным состоянием двух реагентов в субстрате; и прохождение солитона мимо субстрата превращает триплет в синглет и т.д.

Современный аппарат теоретической физики (в том числе, солитоника, теория безызлучательных переходов, квантовая химия) вполне достаточен для детального описания всей совокупности явлений, обсуждаемых в данной работе. На настоящий момент времени более важна иная проблема [3] – очертить круг биомедицинских вопросов, потенциально интересных для обсуждаемой концепции «солитоника в биомедицине».

Примерами таких интересов могут быть следующие - это вопросы химико-биологических процессов в образовании и накоплении энергии в митохондриях, передачи и использовании энергии (например, в качестве АТФ и др. молекул) в процессе сокращения мышечной ткани или передвижения импульса по нервным волокнам, а также работы АТФ-насосов в почечной ткани для перекачивания из крови молекул воды и ионов K^+ и Na^+ при образовании мочи. Более того, в 21-ом веке предстоит сделать ряд открытий в наиболее актуальной области биомедицины – генетике, где остается множество загадок в процессах регуляции работы генов, внутри- и внеклеточных ДНК, циклических РНК и микро-РНК, а также особенностях внутриклеточной репликации вирусных ДНК или РНК.

1. Давыдов А.С. Биология и квантовая механика. Киев: «Наука Думка», 1979, 296 с.

2. Оксенгендлер Б.Л., Аширметов А.Х. и др. Синергизм солитоники и наномедицины: миф или реальность? // ДАН РУз, 2019, № 4, с. 12-15.

3. Hongjun Bian, Yi Zhou, Dawei Zhou et al. The latest progress on miR-374 and its functional implications in physiological and pathological processes // J. Cell. Mol. Med., 2019, vol. 23 (5), pp. 3063-3076.

СИНДРОМ «СТАРЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ» – КАК ФАКТОР ФОРМИРОВАНИЯ АГРЕССИВНОГО ФЕНОТИПА ОПУХОЛИ

"Erythrocytes Aging" Syndrome as a Factor of Aggressive Tumor Phenotype Formation

Бакурова Е.М., Дорошкевич В.С.

ГОО ВПО «ДонНМУ им. М. Горького», ГОУ ВПО «ДонНУ им. Т. Шевченко», г. Донецк, 32023@mail.ru

Развитие анемии у онкобольных сопряжено с формированием агрессивного фенотипа опухоли [1]. Еще до ее развития наблюдаются структурно-функциональные нарушения эритроцитов, обуславливающие их более раннюю элиминацию или внутрисосудистый гемолиз. Ключевыми факторами в патогенезе синдрома их «старения» считают процессы свободнорадикального окисления, карбонилирования и нитрозилирования гемоглобина (Hb). В них участвует железо гема, а Hb переходит из растворимого в мембраносвязанное состояние (МСНб). Нарастание уровней нефункционального МСНб ускоряет гемолиз [2]. Известно, что металлы переменной валентности сами могут инициировать формирование активных форм кислорода (АФК), т.ч. его агрессивных радикалов. Некоторые АФК являются сигнальными молекулами, стимулирующими в тканях ангиогенез, инвазию. Является актуальным выявление возможной взаимосвязи синдрома «старения эритроцитов» и опухолевой агрессии.

Методом атомно-эмиссионной спектроскопии исследованы уровни железа, меди, цинка, кобальта в биоматериале в 8 случаях распространенного рака желудочно-кишечного тракта ($T_{3-4}N_{1-x}M_{0-x}$ стадии).

Содержание металлов определяли в гомогенатах карцином и в нетрансформированных смежных тканях. Наряду с тканями исследовали эритроциты периферической крови, а также эритроциты крови, оттекающей от органа.

Уровни железа в тканях были наивысшими по сравнению с другими металлами. В опухолях – от 99 мкг/г до 58 мкг/г; в нетрансформированных тканях – от 88 до 25 мкг/г. При сравнении образцов тканей в каждом отдельном случае (опухоль/нетрансформированная ткань края резекции) – уровни железа в опухолях были выше, чем в тканях в 1,3-1,6 раза. В отличие от цинка и кобальта содержание меди в опухолях также было выше по сравнению со слизистой края резекции в 1,6-2,4 раза ($p < 0,05$). Повышение содержания железа и меди в карциномах желудка и кишечника способствует формированию в них токсичных форм АФК. Например, в реакциях Хабера-Вейса, Фентона генерируется радикал гидроксила ($\text{HO}\cdot$). Он стимулирует ангиогенез [3]. Обладая мощным повреждающим действием на ДНК, РНК, способствует гибели перитуморальных клеток, опосредует инвазию опухолевого клона.

Содержание железа в эритроцитах периферической крови значительно варьировало от 12340 до 1862 мкг/г ($2737,7 \pm 890$ мкг/г). В эритроцитах крови, оттекающей от органа – от 10397 до 1023 мкг/г ($1780,7 \pm 725$ мкг/г). В каждом индивидуальном случае в эритроцитах крови, оттекающей от органа, его содержание было ниже уровней железа в эритроцитах этого пациента в системном кровотоке. По сравнению с остальными металлами эти различия были характерны лишь для железа.

Можно предположить, что именно эритроцит, из-за нарушения обмена Нб, может быть источником железа для опухоли. Это возможно, например, благодаря дегенерации МСНб и липофильным свойствам гема, способного проникать через мембрану. Гем, благодаря железу, сам обладает выраженными прооксидантными эффектами. Дегенерацию МСНб может реализовывать протеазный комплекс эритроцитов (макрооксипроотеиназа). Кроме этого, в тканях возможен гемолиз эритроцитов, особенно дефектных или «стареющих».

Следовательно, дисметаболические процессы в эритроцитах и повышение в них содержания МСНб, могут быть причиной их ранней элиминации из сосудистого русла. Развитие синдрома «старения эритроцитов» может способствовать перераспределению железа в организме, накоплению его в опухоли, что может быть сопряжено с формированием агрессивных свойств неоплазмы.

1. Рагулин Ю.А., Измestьева О.С., Валняр В.В., Северская Н.В., Полуэктова М.В., Глебова С.Е., Ершова И.Л., Дербугуев В.Н., Жаворонков Л.П. Реакция эритроидного ростка кроветворения на опухолевый рост у больных раком легкого // Сибирский онкологический журнал, 2017, т. 16, № 1, с. 53-58, DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-1-53-58.

2. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Gubkina S.A., Topunov A.F. Interaction of S-nitrosoglutathione with methemoglobin under conditions of modeling carbonyl stress // Hemoglobin, 2013, vol. 37, № 3, pp. 205-218.

3. Mistry R.K., Brewer A.C. Redox regulation of gasotransmission in the vascular system: A focus on angiogenesis // Free Radic. Biol. Med., 2017, vol. 108, pp. 500-516, DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.025.

ПРИРОДА ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ Nature Of anti-Viral Polyoxometalate Activity

Балашов Е.М.¹, Лопатина О.А.², Бакланова О.В.², Ковалевский С.А.¹, Мезенцева М.В.², Ивашкевич Н.А.³,
Кулак А.И.³, Далидчик Ф.И.¹

¹ ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, embalashov@yandex.ru

² Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени
почетного академика Н.Ф. Гамалеи, г. Москва, РФ

³ Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук, г. Минск, Республика Беларусь

Давно известные как эффективные катализаторы, полиоксометаллаты (ПОМ) интенсивно изучаются сегодня как перспективные наноматериалы, область возможных применений которых простирается от нанофизики и нанохимии до нанобиологии и наномедицины. Основная и привлекательная особенность этих соединений – возможность тонкой подборки их физических, химических и биологических свойств, которые можно менять в широких пределах, варьируя элементный состав и/или молекулярную архитектуру. В последнее десятилетие высокие бактерицидные, противораковые и противовирусные свойства ПОМ были дополнены примерами эффективности ПОМ-препаратов при попытках лечения других опасных заболеваний (болезни Альцгеймера, астмы, С - гепатита и др.) Сегодня здесь приоритетными стали задачи целевой оптимизации строения молекул ПОМ. Успех решения этих задач во многом предопределяется объемом достоверной информации о механизмах фундаментальных процессов взаимодействия многозарядных анионов ПОМ с клетками. Прежде всего, с клеточными мембранами (КМ).

Принципиально важная особенность взаимодействий анионов ПОМ с КМ – начальное селективное разрушение верхнего слоя КМ, была недавно обнаружена в работе [1]. Здесь, на примере воздействия кремний молибденовой кислоты (KMK , $\text{H}_4\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$) на клетки фибробластов эмбриона человека методом времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (ToF-SIMS) было впервые установлено, что при

концентрациях водного раствора КМК ~ 15 мкМ разрушение КМ сопровождающееся достаточно большим (на уровне 30-50%) начальным истощением холестерина.

Холестерин (ХЛ) - жизненно важный липид, входящий в состав двойного слоя КМ, играющий роль регулятора её жёсткости, вязкости и проницаемости, принимающий участие во всех важнейших клеточных процессах. В том числе, в патологических, включая многоэтапные процессы, вызываемые вирусными инфекциями [2].

Снижение холестерина в билипидных плёнках, таких как КМ или вирусные оболочки, сопровождается, как это хорошо известно из работ по воздействию на клетки и вирусы метил-β- циклодекстрина (см. например, [3]), значительными (качественными) изменениями всех их биологических свойств. Следует ожидать, что истощение холестерина в рафтах клеток - мишеней и вирусных оболочек также лежит в основе наблюдаемой биологической активности ПОМ. В том числе, противовирусной активности [4].

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Фундаментальные основы создания наноструктурированных систем нового поколения с уникальными эксплуатационными электрическими и магнитными свойствами» № 0082-2018-0003 (регистрационный номер АААА-А18-118012390045-2) при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-54-00004 Бел_а) и Белорусского фонда фундаментальных исследований (договор № X18P-110).

1. Ковалевский С.А., Гулин А.А., Лопатина О.А., Васин А.А., Мезенцева М.В., Балашов Е.М., Кулемин Д.А., Кулак А.И., Далидчик Ф.И. Воздействие наноразмерных анионов кремний-молибденовой кислоты на плазматическую мембрану фибробластов эмбриона человека // Российские нанотехнологии, 2019, т. 14, № 9-10, с. 77-84, DOI: 10.1134/S1995078019050082

2. Балашов Е.М., Далидчик Ф.И., Ковалевский С.А. Холестерин как фактор риска заражения вирусом SARS-Cov-2, Материалы XV международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии, БФФХ-2020», г. Севастополь, 14-16 сентября 2020 г., (в печати).

3. Sun X. and Whittaker G.R. Role for influenza virus envelope cholesterol in virus entry and infection // Journal of Virology, 2003, vol. 77, № 23, pp. 12543-12551, DOI: 10.1128/JVI.77.23.12543-12551.

4. Балашов Е.М., Лопатина О.А., Бакланова О.В., Исаева Е.И., Гушина Е.А., Ковалевский С.А., Мезенцева М.В., Уласевич С.А., Кулак А.И., Далидчик Ф.И. Влияние гетерополиоксидов Кеггина на инфекционную и гемагглютинирующую активность вирусов гриппа // Материалы XIV международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии, БФФХ-2019» г. Москва, 21-24 ноября 2019 г., с. 137.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Diabetes Mellitus and Mitochondrial Dysfunction

Белослудцев К.Н.¹, Белослудцева Н.В.², Старинец В.С.¹, Таланов Е.Ю.², Дубинин М.В.¹

¹ Марийский государственный университет, г. Йошкар-Ола, РФ, bekonik@gmail.com

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино, РФ

Сахарный диабет и его осложнения представляют собой самую распространенную эндокринную патологию в большинстве стран мира. Сахарный диабет – это хроническое заболевание, которое характеризуется относительным или абсолютным отсутствием инсулина, что приводит к гипергликемии. В соответствии с современной классификацией, выделяют два основных типа сахарного диабета. Сахарный диабет I типа (около 10% случаев заболевания диабетом) – это аутоиммунное заболевание, при котором происходит разрушение бета-клеток поджелудочной железы, что приводит к дефициту инсулина в организме. Сахарный диабет II типа (около 90% случаев заболевания) связан с нарушением инсулинового гомеостаза, в частности, инсулино-резистентностью периферических тканей и дисфункцией бета-клеток поджелудочной железы.

Сахарный диабет, как и любое метаболическое заболевание, на клеточном уровне тесно связан с митохондриями. Глюкоза является основным энергетическим ресурсом многих клеток и тканей организма человека и животных. В связи с этим, повреждение механизма поглощения клеткой глюкозы будет приводить к повреждению/изменению клеточного метаболизма и, следовательно, функционирования митохондрий, как важнейших участников метаболизма этого сахара. Впервые дисфункция митохондрий при развитии сахарного диабета была описана 45 лет назад. Однако и на сегодняшний день данные по митохондриальной дисфункции при сахарном диабете достаточно противоречивы.

В настоящей работе разбираются различные механизмы митохондриальной дисфункции при сахарном диабете, а также проведен поиск митохондриально-направленных агентов, которые будут улучшать строение митохондрий и клеточный энергетический метаболизм. Показано, что при развитии сахарного диабета II типа у мышей в гепатоцитах наблюдается набухание и гипертрофия митохондрий, появление малых митохондрий и достоверное снижение числа копий митохондриальной ДНК. Данное изменение может быть связано с нарушением процессов митохондриального биогенеза и митофагии. Параллельно происходит изменение митохондриальной динамики. Наблюдается увеличение экспрессии гена *Drp1* (кодируемый белок ответственен

за деление митохондрий) и снижение экспрессии гена митофузина 2 (кодируемый белок регулирует слияние митохондрий). Одним из признаков сахарного диабета является развитие окислительного стресса. Продemonстрировано, что при моделировании сахарного диабета у мышей в митохондриях печени наблюдается увеличение перекисного окисления липидов, которое детектируется по малоновому диальдегиду. Установлено, что при развитии сахарного диабета изменяется Ca^{2+} транспорт в митохондриях. При этом в митохондриях печени при сахарном диабете подавляется образование Ca^{2+} -зависимой циклоспорин А-чувствительной МРТ поры. Данное изменение является адаптивным и, возможно, препятствует ранней гибели клетки.

Продemonстрировано, что антидиабетические препараты (например, дапаглифлозин) вызывают как снижение уровня сахара в крови, так и улучшают функционирование митохондрий и снимают признаки митохондриальной дисфункции. Подобным действием обладают и митохондриально-направленные антиоксиданты, а также ингибиторы митохондриальной поры (например, S-15176, циклоспорин А). Обсуждается возможное использование соединений, влияющих на митохондрии, в качестве антидиабетических препаратов.

Работа поддержана грантами РНФ (№ 20-15-00120) и РФФИ (№19-015-00117, эксперименты с дапаглифлозином).

ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ СЛЮНЫ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ, ЭНДОМЕТРИЯ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МЕТОДОМ ИК СПЕКТРОСКОПИИ

Evaluation of Salivary Lipid Profile in Ovarian, Endometrial and Thyroid Cancer by IR Spectroscopy

Бельская Л.В., Сарф Е.А.

Омский государственный педагогический университет, г. Омск, РФ, belskaya@omgpu.ru

Исследования ряда авторов показывают важную роль липидов в процессах канцерогенеза и предлагают использовать данные показатели в диагностике онкологических заболеваний. Целью данной работы являлось применение метода ИК-Фурье спектроскопии для оценки изменения липидного профиля при раке яичников, эндометрия и щитовидной железы.

Материалы и методы. В исследовании случай – контроль приняли участие добровольцы, которые были разделены на 2 группы: основную (рак яичников, $n=26$; рак эндометрия, $n=25$ и рак щитовидной железы, $n=42$) и контрольную группу ($n=30$). В качестве материала для биохимических исследований использовали слюну. Определение липидов проведено методом Фолча в модификации авторов, в которой после экстракции липидов смесью хлороформ/этанол проводят определение липидов методом ИК спектроскопии [1]. Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни. Исследования одобрены на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

Результаты. Максимальная концентрация липидов характерна для контрольной группы (0,038 [0,025; 0,062] ммоль/л), далее она снижается до 0,030 [0,026; 0,045] для онкологических заболеваний, однако выявленные различия статистически не достоверны. В качестве аналитических полос поглощения (ПП) на ИК спектрах липидных экстрактов выбраны полосы, соответствующие валентным и деформационным колебаниям метильных и метиленовых групп липидов и жирных кислот: 1396, 1458, 2853, 2923 и 2957 cm^{-1} . При этом интенсивность ПП на спектрах пациентов с онкологическими заболеваниями ниже, чем для контрольной группы (табл. 1). Для рака щитовидной железы в большей степени уменьшаются характеристики ПП 1396 и 1458 cm^{-1} , тогда как для рака яичников и эндометрия – ПП 2853 и 2923 cm^{-1} . Дополнительно рассчитано соотношение высот ПП 2923/2957 cm^{-1} , которое статистически достоверно уменьшается как для рака эндометрия (-16,2% по сравнению с контрольной группой), так и для рака яичников (-23,9%) и может быть использовано в диагностических целях. Однако для рака щитовидной железы данное соотношение увеличивается (+5,7%), что, по-видимому, отражает разный механизм канцерогенеза при гинекологическом раке и раке щитовидной железы. Для соотношения высот ПП 1458/1396 cm^{-1} наблюдается незначительное увеличение при раке яичников и эндометрия (+13,7 и +4,2% соответственно), однако для рака щитовидной железы рост составил 79,8%. Таким образом, для диагностики рака яичников и эндометрия целесообразно использовать соотношение ПП 2923/2957 cm^{-1} , тогда как для щитовидной железы – соотношение ПП 1458/1396 cm^{-1} . Параллельно в слюне проведено определение продуктов перекисного окисления липидов. Установлено, что при раке яичников и эндометрия наблюдается усиление процессов липопероксидации: уменьшается содержание первичных продуктов (диеновых конъюгатов), однако растет уровень вторичных (триеновых конъюгатов и оснований Шиффа), тем не менее рост конечного продукта малонового диальдегида (МДА) статистически не достоверен. Увеличение концентрации диеновых конъюгатов коррелирует с ростом интенсивности ПП 2853, 2923 и 2957 cm^{-1} ($r=0,3295$), тогда как для МДА выявлена отрицательная корреляция с теми же ПП ($r=-0,4178$). Для рака щитовидной железы существенного увеличения уровня продуктов липопероксидации в слюне не выявлено.

Таблица 1. Интенсивность ПП на ИК спектрах слюны

ПП, см ⁻¹	Рак эндометрия, n=25	Рак яичников, n=26	Рак щитовидной железы, n=42	Контрольная группа, n=30
1396	2,89 [2,29; 3,32]	3,00 [2,38; 3,65]	0,82 [0,61; 1,21]	3,66 [1,98; 4,06]
1458	5,42 [4,25; 5,90]	5,70 [4,50; 6,98]	2,75 [2,15; 3,66]	6,44 [3,71; 7,18]
2853	7,03 [5,50; 8,80]	5,72 [4,19; 7,44]	8,02 [6,48; 9,44]	7,79 [6,22; 10,81]
2923	12,2 [10,0; 15,3]	10,8 [7,35; 12,9]	13,0 [11,1; 15,2]	13,8 [10,2; 18,1]
2957	2,79 [2,40; 3,47]	2,19 [2,07; 3,52]	2,17 [1,79; 2,47]	2,58 [1,88; 3,24]
2923/2957	4,35 [3,93; 5,01]	3,95 [3,36; 4,88]	5,49 [4,87; 6,77]	5,19 [4,15; 6,73]
1458/1396	1,75 [1,54; 2,37]	1,91 [1,59; 2,40]	3,02 [2,49; 4,10]	1,68 [1,55; 1,98]

Таким образом, предложена модификация метода Фолча для определения липидов в биологических жидкостях. На примере слюны показано, что использование данного метода не только позволяет определить содержание липидов с погрешностью, не превышающей 10%, но и оценить изменения в структуре липидов, например, связанные с процессами липопероксидации.

1. Bel'skaya L.V., Sarf Ye.A., Solomatin D.V. Determination of the quantitative content of lipids in biological material by IR spectroscopy // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2019, vol. 64, № 4, pp. 204-209.

РОЛЬ Na^+ , K^+ , 2Cl^- -КОТРАНСПОРТА В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ГЛАДКИХ МЫШЦ СОСУДОВ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Role of Na^+ , K^+ , 2Cl^- Cotransport in the Regulation of Contractile Reactions of Vascular Smooth Muscles in Metabolic Syndrome

Бирулина Ю.Г., Буйко Е.Е., Габитова И.О., Иванов В.В., Смаглий Л.В., Носарев А.В., Гусакова С.В.
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, РФ, birulina20@yandex.ru

Поддержание сосудистого тонуса обеспечивается сократительной активностью гладкомышечных клеток (ГМК), находящихся в стенках сосудов, и играет важную роль в регуляции кровотока в тканях и органах. Дисрегуляция сократительных ответов ГМК может происходить при различных патологических состояниях, в том числе, и при метаболическом синдроме (МС) [1]. Учитывая важную роль Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта (НКСС) в поддержании неравновесного электрохимического потенциала ионов хлора, можно полагать, что объем-зависимый ионный транспорт может быть вовлечен в регуляцию сократительной активности ГМК при МС [2].

Механографическим методом исследовали сократительную активность изолированных гладкомышечных сегментов аорты аутбредных крыс Wistar контрольной (11 животных) и экспериментальной (12 животных) групп. Крысы контрольной группы содержали на стандартной диете (корм «Дельта Фидс», Биопро, РФ). Крысы опытной группы в течение 12 недель получали высокожировую и высокоуглеводную пищу [3], обогащенную животным жиром (лярд, 17%) и фруктозой (17%) вместе с 20% раствором фруктозы вместо питьевой воды. Животные имели свободный доступ к питью и пище. Предсокращающими агентами служили гиперкалиевый раствор (30 мМ KCl) и фенилэфрин (ФЭ, 1 мкМ), сократительные ответы на которые принимали за контрольные (100%). В качестве селективного ингибитора НКСС использовали буметанид (100 мкМ).

Установлено, что при действии раствора хлорида калия (30 мМ) не наблюдалось достоверных отличий механического напряжения кольцевых дезэндоотелизированных сегментов сосудов крыс контрольной и опытной групп ($n=6$, $p>0,05$). При стимуляции сокращений гладких мышц аорты агонистом адренорецепторов ФЭ (0,01–100 мкМ) происходило дозозависимое увеличение амплитуды сокращения сосудов крыс контрольной и экспериментальной группы, менее выраженное у крыс с МС ($n=6$, $p<0,05$). В исследованиях с ГМК аорты животных контрольной и опытной группы величина EC_{50} для ФЭ составила $8,3 \times 10^{-7}$ М и $4,9 \times 10^{-6}$ М, соответственно. Предобработка буметанидом гладкомышечных сегментов аорты не изменяла исходного механического напряжения сосудистых ГМК. Однако на фоне действия ингибитора НКСС происходило снижение амплитуды сокращений сегментов аорты крыс контрольной и экспериментальной групп, вызванных действием гиперкалиевого раствора и фенилэфрина, в большей степени характерное для сосудистых гладких мышц крыс с МС. При этом механическое напряжение гладкомышечных сегментов аорты крыс опытной группы, предсокращенных агонистом адренорецепторов, снизилось на 12 % ($n=6$, $p<0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Полученные данные могут свидетельствовать о том, что у животных с МС наблюдается подавление сократительных ответов и чувствительности ГМК аорты к действию ФЭ, а эффекты, возникающие в мышечных клетках на фоне метаболических и гемодинамических нарушений при МС, вероятно, обусловлены увеличением активности НКСС.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Томской области в рамках научного проекта № 19-415-703015.

1. Aydin S., Aksoy A., Aydin S., Kalayci M., Yilmaz M., Kuloglu T., Citil C., Catak Z. Today's and yesterday's of pathophysiology: Biochemistry of metabolic syndrome and animal models // *Nutrition*, 2014, vol. 30, pp. 1-9, DOI: 10.1016/j.nut.2013.05.013.
2. Orlov S.N., Koltsova S.V., Kapilevich L.V., Gusakova S.V., Dulin N.O. NKCC1 and NKCC2: The pathogenetic role of cation-chloride cotransporters in hypertension // *Genes Dis.*, 2015, vol. 2, № 2, pp. 186-196, DOI: 10.1016/j.gendis.2015.02.007.
3. Gancheva S., Zhelyazkova-Savova M., Galunska B., Chervenkov T. Experimental models of metabolic syndrome in rats // *Scripta Scientifica Medica*, 2015, vol. 47, pp. 23-30.

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И ГЛУТАТИОНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В СПЕРМАТОЗОИДАХ

Effects of Melatonin and Glutathione on Oxidative Stress in Spermatozoa

Бочков Е.И., Миронова А.Г., Яковенко С.А., Симоненко Е.Ю.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, bo4kov23@gmail.com

Отсутствие баланса между появлением активных форм кислорода (АФК) и способностью клетки нейтрализовывать их называется окислительным стрессом. В сперматозоиде этот процесс может привести к перекисному окислению липидов, фрагментации ДНК, изменениям в подвижности [1] и, как следствие, бесплодию ввиду неполноты антиоксидантной системы клетки [2]. Антиоксиданты могут замедлить окислительный стресс или остановить его, вступая в окислительно-восстановительные реакции с АФК. Мелатонин и глутатион являются эндогенными антиоксидантами, которые присутствуют в метаболизме человека и имеют свои собственные цепочки реакций. С практической точки зрения, использование антиоксидантов для предотвращения окислительного стресса в сперматозоидах может обеспечить лучшие результаты при криоконсервации и экстракорпоральном оплодотворении.

Целью исследования является определение влияния мелатонина и глутатиона в качестве антиоксидантов на жизнеспособность сперматозоидов человека при искусственно активированном и эндогенном окислительном стрессе.

В качестве активатора стресса использовался раствор перекиси водорода (H_2O_2) концентрации $0,5\mu M$; о жизнеспособности клеток судили по оценке индекса подвижности сперматозоидов ($I_{под}$). В работе была показана неэффективность добавления глутатиона ($0,5mM$) в культуральную среду (рис. 1) в качестве антиоксиданта. Значимого различия между подвижностью клеток, прошедших индукцию окислительного стресса H_2O_2 в присутствии глутатиона и без него не наблюдалось. Мы предполагаем, что это связано с отсутствием действующих ферментов глутатионпероксидазы GPX в человеческих сперматозоидах. Группа образцов с добавлением мелатонина ($0,5mM$) при активации окислительного стресса значительно отличается от остальных групп образцов и значимо не отличается от контрольной группы, в которую не добавлялась перекись, что подтверждает антиоксидантный эффект мелатонина в сперматозоидах человека. Посредством математического моделирования было выяснено, что вся перекись водорода связывается с мелатонином в течение 1-2 секунд.

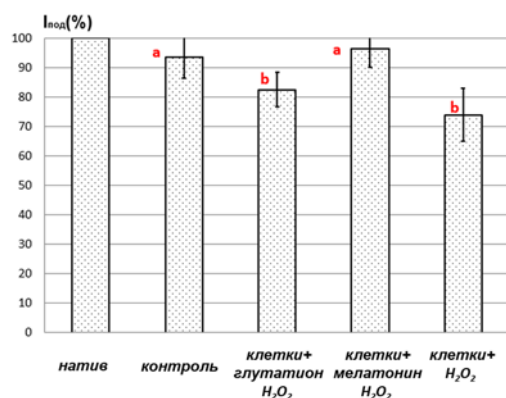


Рисунок 1. Сравнение клеток с нормальными формами подвижности в присутствии глутатиона и мелатонина после инкубации с H_2O_2 ($0,5\mu M$).

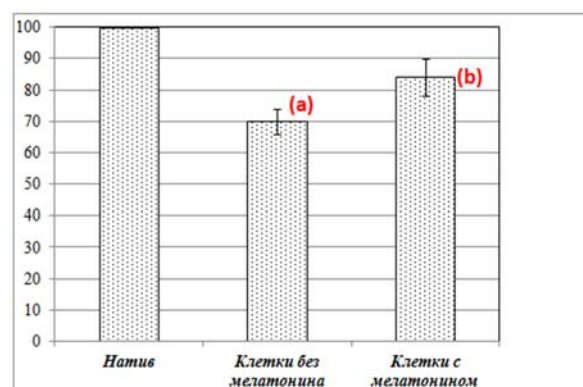


Рисунок 2. Влияние мелатонина ($0,5mM$) на естественный окислительный стресс в сперматозоидах человека.

Приведенные погрешности рассчитаны как стандартные ошибки среднего. Буквами a, b – обозначены статистически достоверно различимые выборки ($p < 0,01$).

Было показано также, что мелатонин улучшает жизнеспособность сперматозоидов в течение длительных сроков инкубации $t=48$ ч (рис. 2). Таким образом, добавление мелатонина в среду позволяет длительное время сохранять высокий процент жизнеспособных клеток за счет снижения окислительного стресса. Это позволяет сделать вывод об эффективности использования мелатонина (0,5 мМ) в качестве антиоксиданта, также возможно его использование как криопротектора при заморозке сперматозоидов на длительный срок.

1. Kao S.H., Chao H.T., Chen H.W., Hwang T.I., Liao T.L., Wei Y.H. Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility // *Fertil. Steril.*, 2008, vol. 89 (5), pp. 1183-1190, Epub 2007 Jul 31.

2. O'Flaherty C. The Enzymatic Antioxidant System of Human Spermatozoa *Advances in Andrology*. 2014, Article ID 626374.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ САМОАССОЦИИ КОМПЛЕКСОВ Рт-ПРОИЗВОДНЫХ САЛЕНОВ, САЛЬФЕНОВ И АРИЛБИПИРИДИНОВ ПО ДАННЫМ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ И ЯМР-ДИФФУЗОМЕТРИИ

Comparative Analysis of the Self-association of Pt-derivative Complexes of Salens, Salphens and Arylbipyridines by Means of NMR Spectroscopy and NMR Diffusometry

Бучельников А.С.¹, Сало В.А.¹, Яковлева Ю.А.², Ельцов О.С.², Кожевников В.Н.³, Евстигнеев М.П.¹

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, asbuchelnikov@sevsu.ru

² Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, РФ

³ Университет Нортумбрии, г. Ньюкасл, Великобритания

В настоящей работе проведен количественный анализ самоассоциации Рт-содержащих соединений YAK по данным ¹H и ¹⁹⁵Pt ЯМР-спектроскопии и ЯМР-диффузометрии.

Для каждого из шести соединений YAK был получен следующий набор данных:

- 1) концентрационная зависимость коэффициента самодиффузии;
- 2) концентрационная зависимость химического сдвига ¹⁹⁵Pt;
- 3) концентрационные зависимости химических сдвигов протонов молекулы.

Анализ заключался в нахождении равновесной константы, а также сопутствующих параметров самоассоциации (химические сдвиги ядер атомов молекулы в мономерном состоянии и в составе димера). Основным инструментом анализа являлись бесконечномерная (для химических сдвигов)

$$\delta_{\text{obs}} = 2\delta_d - \delta_m + \frac{4(\delta_m - \delta_d)}{1 + \sqrt{1 + 4Kx_0}} \quad (1)$$

и димерная (для коэффициентов самодиффузии)

$$D_{\text{obs}} = D_d + \frac{2(D_m - D_d)}{1 + \sqrt{1 + 8Kx_0}} \quad (2)$$

модели агрегации. В формулах (1), (2): K , x_0 – равновесные константа самоассоциации и общая концентрация молекул вещества; δ_m , δ_d – химические сдвиги молекул в мономерном состоянии и в составе димера соответственно; D_m , D_d – коэффициенты самодиффузии протонов молекул в мономерном состоянии и в составе димера соответственно. Вычисления были проведены с помощью программы, написанной на языке Python.

Из проведенных расчетов вытекает примерно двукратное различие K по бесконечномерной модели (по данным ¹H ЯМР-спектроскопии) и димерной модели (по данным ЯМР-диффузометрии) для исследованных соединений. Это вполне ожидаемо, поскольку формальное различие между димерной и бесконечномерной моделями агрегации проявляется именно в двукратном различии константы агрегации [1]. Полученный результат указывает на хорошее соответствие величины K полученной по данным различных методов – титрование протонных химических сдвигов и измерение диффузионных свойств системы. При этом значение K по данным титрования ¹⁹⁵Pt для одного из соединений (YAK-91) оказывается заниженным по сравнению с расчетом по данным титрования ¹H. Ранее подобные различия также наблюдались и для агрегации других платиносодержащих соединений [2].

В целом по двум соединениям (YAK-73 и YAK-91) следует отметить большое различие (почти на порядок) величин констант агрегации. При этом значение K для YAK-91 оказывается схожим с родственным по структуре NNC-соединением SAF-23 ($K = 1730 \pm 825 \text{ M}^{-1}$), изученном ранее и отличающемся лишь положением бокового бензольного радикала в структуре хромофора. Очевидно, что различие в K для YAK-91 и YAK-73 обусловлены структурой хромофора: NNC-тип у YAK-93 и NNN-типа у YAK-73. По-видимому, замена атома углерода на азот в структуре ароматического хромофора YAK негативно сказывается на интенсивности дисперсионных π - π взаимодействий в агрегатах, что приводит к падению вклада ван-дер-Ваальсовых взаимодействий и падению K .

1. Evstigneev M.P., Buchelnikov A.S., Kostjukov V.V., Pashkova I.S., Evstigneev V.P. Indistinguishability of the models of molecular self-assembly // *Supramol. Chem.*, 2013, vol. 25, № 4, pp. 199-203, DOI: 10.1080/10610278.2012.752090.

2. Evstigneev M.P., Lantushenko A.O., Yakovleva Yu.A., Suleymanova A.F., Eltsov O.S., Kozhevnikov V.N. Tuning the aggregation of $N^{\wedge}N^{\wedge}C$ Pt(II) complexes by varying the aliphatic side chain and auxiliary halide ligand: 1H and ^{195}Pt NMR investigation// *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2019, vol. 2019, № 38, pp. 4122-4128, DOI: 10.1002/ejic.201900821.

ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ ИЗ ЛИЗОЦИМА НА СОСТОЯНИЕ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА IN VITRO

The Effect of Amyloid Fibrils from Lysozyme on the Lipid Bilayer of Human Lymphocytes under the Action of Oxidative Stress *in vitro*

Венская Е.И., Лукьяненко Л.М., Скоробогатова А.С.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск, РБ, *e.i.rusina@mail.ru*

Неспособность молекул белка сворачиваться в нативную форму может приводить к образованию амилоидных фибрилл и нарушению функции белков, что связано с развитием ряда патологий, среди которых сахарный диабет II типа, болезни Альцгеймера и Паркинсона, сосудистая деменция, миотропный латеральный склероз, множественная системная атрофия и др. [1]. Механизмы действия амилоидов на мембраны клеток до конца не изучены. Цель данной работы – изучить влияние амилоидных фибрилл на состояние липидного бислоя мембран лимфоцитов человека в условиях окислительного стресса, вызванного трет-бутилгидроперекисью (t-BHP). Лимфоциты выделяли из периферической крови доноров в градиенте плотности гистобака. Амилоидные фибриллы получали из лизоцима куриного яйца. Процесс образования фибрилл контролировали с помощью специфического флуоресцентного зонда тиюфлавина Т. Генерацию активных форм кислорода (АФК) определяли с помощью флуоресцентного зонда 5-(6)-хлорметил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H₂DCFDA) [2]. Для моделирования окислительного стресса в клетках использовали t-BHP в конечной концентрации 1 мМ. Изменение физико-химического состояния липидного бислоя мембран лимфоцитов человека изучали с помощью липофильных флуоресцентных зондов 1-(4-триметиламмонийфенил)-6-фенилгекса-1,3,5-триена (ТМА-ДФГ), 6-додеканоил-2-диметиламинонафтадена (лаурдан), пирена, которые встраиваются в мембраны клеток на различной глубине липидного бислоя. О процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах клеток судили по концентрации малонового диальдегида (МДА). Измерение параметров зондовой флуоресценции проводили на люминесцентном спектрофотометре CM2203 ("СОЛАР", Беларусь).

Нами обнаружено, что амилоидные фибриллы из лизоцима при воздействии на лимфоциты человека не вызывают генерацию АФК в них, однако способны усиливать окислительный стресс, вызванный t-BHP. Показано, что при инкубации лимфоцитов в PBS-буфере, содержащем амилоидные фибриллы и t-BHP, в течение 60-120 мин при 37°C интенсивность флуоресценции окисленной формы CM-H₂DCFDA увеличивается на 33-38% по сравнению с образцами, проинкубированными только с t-BHP. При исследовании процессов ПОЛ в мембранах лимфоцитов после инкубации клеток 60 мин при 37°C было показано, что под воздействием только амилоидных фибрилл из лизоцима уровень МДА снижается в среднем на 20%, а сочетанное воздействие амилоидных фибрилл и t-BHP приводит к увеличению данного параметра в среднем на 35% по сравнению с контрольными клетками. Изучены показатели флуоресценции липофильных зондов, встроенных в мембраны лимфоцитов, после предварительной инкубации клеток 60 мин при 37°C в PBS-буфере, содержащем амилоидные фибриллы и t-BHP, только амилоидные фибриллы или t-BHP. Обнаружено снижение генерализованной поляризации флуоресценции лаурдана и коэффициента эксимеризации пирена, встроенных в мембраны лимфоцитов, при всех типах обработки клеток. Однако максимальный эффект наблюдался в мембранах клеток, проинкубированных с амилоидными фибриллами в присутствии t-BHP. Поляризация флуоресценции ТМА-ДФГ, встроенного в мембраны лимфоцитов, подвергшихся воздействию амилоидных фибрилл на фоне окислительного стресса, вызванного t-BHP, увеличивалась по сравнению с контрольными клетками, а также обработанными только амилоидными фибриллами или только t-BHP.

Результаты позволяют сделать вывод о том, что полученные на основе лизоцима амилоидные фибриллы вызывают модификацию физико-химического состояния липидного бислоя мембран лимфоцитов человека, причем воздействие амилоидов на клетки усиливается на фоне окислительного стресса, вызванного t-BHP.

1. Мальцев А.В., Галзитская О.В. Образование и участие нано-амилоидов в патогенезе болезни Альцгеймера и других амилоидогенных заболеваний // *Биомедицинская химия*, 2010, т. 56, вып. 6, с. 624-638.

2. Wojtala A., Bonora M., Malinska D., Pinton P., Duszynski J., Wieckowski M. Methods to Monitor ROS Production by Fluorescence Microscopy and Fluorometry // *Methods in enzymology*, 2014, vol. 542, pp. 243-262.

СИСТЕМА ОКСИДА АЗОТА И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В МЕХАНИЗМАХ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СУСТАВОВ

Nitrogen Oxide System and Proinflammatory Cytokines in Mechanisms of Joint Degenerative Diseases

Внуков В.В.¹, Кролевец И.В.², Плотников А.А.¹, Ананян А.А.¹, Колесников М.А.³, Милютин Н.П.¹

¹ Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, natmilut@rambler.ru

² Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону

³ Городская клиническая больница № 2, г. Ставрополь

Гонартроз (ГА), или артроз коленных суставов, относится к мультифакторным дегенеративно-дистрофическим заболеваниям с хроническим, неуклонно прогрессирующим течением. Артроз встречается у каждого пятого человека на Земле; у лиц трудоспособного возраста ГА в 80% является посттравматическим и представляет важнейшую социально-экономическую проблему [1].

Цель – исследование роли провоспалительных медиаторов в плазме крови и синовиальной жидкости (СЖ) как потенциальных биомаркеров прогрессирования посттравматического гонартроза (ПТГА), а также оценка полиморфизма гена нейрональной NO-синтазы (*NOS1*) в качестве предиктора предрасположенности к развитию ПТГА.

Проведено обследование 137 пациентов с диагнозом ПТГА и 96 здоровых лиц (контроль). Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от стадии ПТГА по шкале Kellgren–Lawrence (K/L) – ранние стадии по K/L ≤ 2 (1 группа), поздние стадии по K/L ≥ 3 (2 группа). В качестве провоспалительных медиаторов в плазме крови и синовиальной жидкости (СЖ) определяли содержание оксида азота по уровню нитритов/нитратов (NOx), а также уровни лептина, IL-1β, IL-6, IL-18, TNFα, мочевой кислоты. Для генотипирования использовали полимеразную цепную реакцию с последующей электрофоретической детекцией в агарозном геле (диагностикумы «SNP-экспресс», «Литех», Россия). Оценку диагностической информативности лабораторных тестов проводили с помощью метода построения характеристических кривых (ROC-анализ).

Установлено, что пациенты с ранними и поздними стадиями ПТГА имеют повышенные уровни провоспалительных медиаторов в плазме и СЖ – нитритов/нитратов, лептина, IL-6 и мочевой кислоты по сравнению со здоровыми лицами.

Важная роль в патогенезе ПТГА принадлежит оксиду азота (NO•), который способствует развитию нитрозильной составляющей окислительного стресса и воспаления при дегенеративных заболеваниях суставов. Установлено, что содержание нитритов/нитратов (NOx–) в плазме крови и СЖ пациентов с ПТГА более, чем вдвое превосходит уровень контроля. Известно, что при ОА хондроциты наряду с провоспалительными медиаторами генерируют оксид азота (NO•), сверхпродукция которого осуществляется, главным образом, индуцибельной NO-синтазой. В результате ROC-анализа была показана прогностическая ценность определения уровня NOx– как предиктора ранней стадии ПТГА. Чувствительность теста равна 84,4%, специфичность – 100%, значения площади под ROC-кривой (area under curve, AUC) – 0,888 (0,826–0,949) при $p < 0,00001$.

Исследование роли полиморфного локуса *-84G>A* гена *NOS1* показало, что аллель *-84A* ассоциирован с ПТГА, поскольку его наличие увеличивает в 2,02 раза риск развития патологии.

Установлено, что содержание лептина в плазме крови и СЖ больных ПТГА прогрессивно возрастает. Кроме того, установлено, что содержание лептина в плазме крови и СЖ коррелирует с индексом массы тела пациентов с ПТГА ($R=0,765$, $p=0,03$). Лептин, как показано, синтезируется различными тканями сустава и повышает продукцию провоспалительных и деструктивных факторов, связанных с патогенезом ПТГА, – IL-1β, IL-6, молекул клеточной адгезии (VCAM-1), оксида азота (NO) в суставных хондроцитах. Кроме того, лептин способствует повышению продукции матриксных металлопротеиназ (MMP-1, MMP-3, MMP-9 и MMP-13) в хондроцитах, увеличивая их катаболический потенциал.

Обнаружено, что содержание IL-6 в плазме крови и СЖ больных с ПТГА на различных стадиях заболевания существенно возрастает относительно уровня доноров, особенно в СЖ, многократно превышая уровень контроля. Известно, что IL-6 может регулировать экспрессию медиаторов воспаления, миграцию лейкоцитов, участвовать в развитии синовита и дегенерации хряща.

В результате ROC-анализа нами была показана прогностическая ценность комбинирования показателей – уровней IL-6 и лептина в плазме крови, как предикторов развития ПТГА. Чувствительность теста равна 85,7%, специфичность – 96,7%, значения площади под ROC-кривой (area under curve, AUC) – 0,933 (95% ДИ 0,839–1,0) при $p < 0,00001$.

Таким образом, установлено, что циркулирующие уровни NOx, лептина, IL-6, мочевой кислоты, и комбинации IL-6 и лептина могут быть информативными диагностическими биомаркерами развития ПТГА в соответствии с результатами ROC-анализа, а определение полиморфного маркера гена *NOS1* (аллель *-84A*) ассоциированного с развитием ПТГА, повысит точность и информативность диагностики генетической предрасположенности к развитию посттравматического гонартроза.

ДЕТЕРГЕНТ-РЕЗИСТЕНТНЫЕ МЕМБРАНЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА: ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЦИНКА НА МОДИФИКАЦИЮ ИХ СОСТАВА
Detergent-resistant Membranes in Human Erythrocytes: Influence of Zn^{2+} on Modification of its Composition

Гармаза Ю.М.¹, Чиана А.², Минетти Дж.²

¹ ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь, garmaza@yandex.ru

² Университет Павии, г. Павия, Италия

Ранее нами было показано, что воздействие ионов цинка в фармакологических и токсичных концентрациях на эритроциты человека *in vitro* сопровождается увеличением уровня SH- и NH_2 -групп на поверхности их цитоплазматической мембраны, а также модификацией физического состояния фосфолипидов и латерального распределения мембранного холестерина. Более того, было установлено, что происходит Zn -индуцированное усиление транспортной активности мембранных белков-транспортеров семейства MRP. В связи с этим была выдвинута гипотеза, что одним из возможных механизмов обнаруженных Zn -индуцированных модификаций клеточной мембраны является нарушение структуры и функции специализированных гликолипидных микродоменов (липидных рафтов) [1]. Как известно, эти холестерол- и сфинголипид-обогащенные мембранные домены в ассоциации со специфическими мембранными белками (флоттилины, стоматины, G-белки) играют важную роль в таких процессах, как сортировка белков, построение сигнальных комплексов, клеточной сигнализации (напр.: апоптозе) [2]. Цель работы – проверка гипотезы, что одним из механизмов Zn -индуцированных изменений мембран эритроцитов является модификация липидных рафтов.

Материалы и методы исследования. В работе использована кровь здоровых доноров в консерванте “гепарин”. Липидные рафты или изолированные из эритроцитарных мембран детергент-резистентные участки мембран (DRMs) были экстрагированы из цельных эритроцитов до и после нагрузки их ионами цинка (50 и 500 мкМ, 2 ч, 37°C) в градиенте сахарозы в 5 мМ HEPES буфере, содержащий 150 мМ KCl, 8 мМ NaCl, 2 мМ $MgCl_2$, pH 7.4 с добавлением 1% тритона X-100. После ультрацентрифугирования (220000 g, 4°C, 16 ч) суспензия эритроцитов разделялась на 6 фракций, которые были собраны по 1 мл и подвержены дальнейшему анализу. Стоит отметить, что именно 2-я фракция представляет собой DRMs [3]. Оценку модификации DRMs проводили по анализу следующих мембраносвязанных белков: флотилин-2, стоматин, белок полосы 3, с помощью методов электрофореза в полиакриламидном геле и вестерн-блоттинга с применением специфических антител.

Результаты и обсуждения. После проведения ультрацентрифугирования в суспензии интактных и Zn -нагруженных эритроцитов не обнаружено видимых различий в количестве полос DRMs и степени их упаковки. Таким образом, можно заключить, что взаимодействие Zn^{2+} с мембранами эритроцитов не оказывает влияния на уровень мембранного холестерина и/или сфинголипида (как основных рафтовых липидов). Изучение локализации и количества как белков-маркеров DRMs (флотилин-2 и стоматин) [2], так и нерафтовых белков – белка полосы 3, в каждой изолированной фракции, позволило установить следующее: белок-маркер DRM – флотилин-2 (47 кДа), находится только во фракции липидных рафтов, в то время, как во фракциях 3–6 он не обнаружен ни в контрольных образцах, ни в образцах, подвергшихся воздействию Zn^{2+} . При этом плотность белка и его локализация не зависела от концентрации Zn^{2+} в среде инкубации и отличий от контрольных образцов обнаружено не было. В то же время, были обнаружены различия в количестве и локализации другого белка-маркера DRMs – стоматина (32 кДа). В образцах, подвергшихся воздействию Zn^{2+} в исследуемых концентрациях, белок был обнаружен также в нерафтовых фракциях, чего не наблюдалось в образцах интактных клеток, а плотность полосы белка в рафтовой зоне была выше, по сравнению с интактными клетками.

Как известно, одним из участников активного транспорта может быть основной интегральный белок мембраны эритроцитов – белок полосы 3, важнейшей функцией которого является транспорт анионов через плазматическую мембрану. Ранее было установлено, что Zn^{2+} в концентрации 50 мкМ индуцирует конформационные изменения в цитоплазматическом домене белка полосы 3, которые, в свою очередь, передаются мембранному домену, в результате чего происходит ингибирование его анион-транспортной активности [4]. Используя метод вестерн-блоттинга, было обнаружено уменьшение количества белка полосы 3 в рафтовой зоне клеток, подвергшихся воздействию Zn^{2+} по сравнению с контрольными образцами.

Заключение. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что ионы цинка в субгемолитических концентрациях не оказывают видимого влияния на количество и степень упаковки DRMs, с одной стороны, но в то же время модифицируют их структуру (изменяя локализацию как белка-маркера DRM – стоматина, так и интегрального белка – белка полосы 3).

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда Карипло.

1. Harmaza Y.M., Slobozhanina E.I. Zinc essentiality and toxicity: biophysical aspects // Biophysics, 2014, vol. 59, pp. 264-275, DOI: 10.1134/S0006350914020092.

2. Петрович В.А., Слобожанина Е.И. Липидные рафты в биологических мембранах // Новости медико-биологических наук, 2013, т. 7, № 1, с. 69-75.

3. Ciana A., Achilli C., Balduini C., Minetti G. On the association of lipid rafts to the spectrin skeleton in human erythrocytes // Biochimica et Biophysica Acta, 2011, vol. 1808, p. 183-190, DOI: 10.1016/j.bbamem.2010.08.019.

4. Tu Y.P., Yang F.Y. Zn²⁺-Mediated Domain-Domain Communication in Human Erythrocyte Band 3 // Journal of Biochemistry, 1995, vol. 118, № 1, pp. 161-167, DOI: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a124872.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ НА ТЕЧЕНИЕ COVID-19 Influence of Polysaccharides on COVID-19

Генералов Е.А.¹, Генералова Л.В.²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, *generals1179@gmail.com*

² ООО НПФ «Гемма-Б», г. Москва, РФ, *lira.vialbe@rambler.ru*

Одной из острых проблем современности является коронавирусная инфекция COVID-19, вызванная (+)оцРНК вирусом SARS-CoV-2. В настоящее время до сих пор не существует эффективной терапии этого инфекционного заболевания, а существующие меры либо имеют ярко выраженные отрицательные побочные эффекты, либо недостаточно эффективны и не для всех социальных групп могут быть использованы.

Последние исследования эффективности препаратов Арбидол, Лопинавир/Ритонавир [1] и Гидроксихлорохин [2], показали их недостаточную эффективность и наличие побочных эффектов, не позволяющих применять у некоторых групп пациентов. Вместе с тем до сих пор недостаточно данных, подтверждающих эффективность препаратов Фавипиравир и Актемра [3].

Препарат «ИММЕРАН» зарегистрирован как лекарственный препарат для лечения язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (РУ № ЛП-004128 от 08 февраля 2017 года). Представляет собой полисахарид с молекулярной массой 70 кДа, моносахаридный состав которого в основном представлен арабинозой, глюкозой и галактозой. При этом регенераторный эффект у пациентов с язвенным дефектом наблюдался параллельно с регулированием уровней про- и противовоспалительных цитокинов, например: IL-1, IL-4, IL-6, TNF (неопубликованные данные), что позволило предположить эффективность этого препарата при коронавирусной инфекции в качестве средства для восстановления паренхимы легких.

Учитывая содержание раздела 5.1 Временных методических рекомендаций, о возможности применения препаратов «off-label» для терапии COVID-19, наличие язвенного дефекта и первичных положительных результатах после первых инъекций - пациенты принимали препарат «Иммеран» параллельно со стандартной терапией в соответствии с документом министерства здравоохранения «Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 5: Арбидол, Гидроксихлорохин, Азитромицин, Левофлоксацин, Эноксапарин, Аскорбиновая кислота (или аналоги). При этом у всех пациентов имелся подтвержденный диагноз COVID-19 на основании ПЦР анализа мазка из носоглотки (U07.1), и/или IgA, IgG, IgM к SARS-CoV-2, и/или характерной картины КТ легких (U07.2).

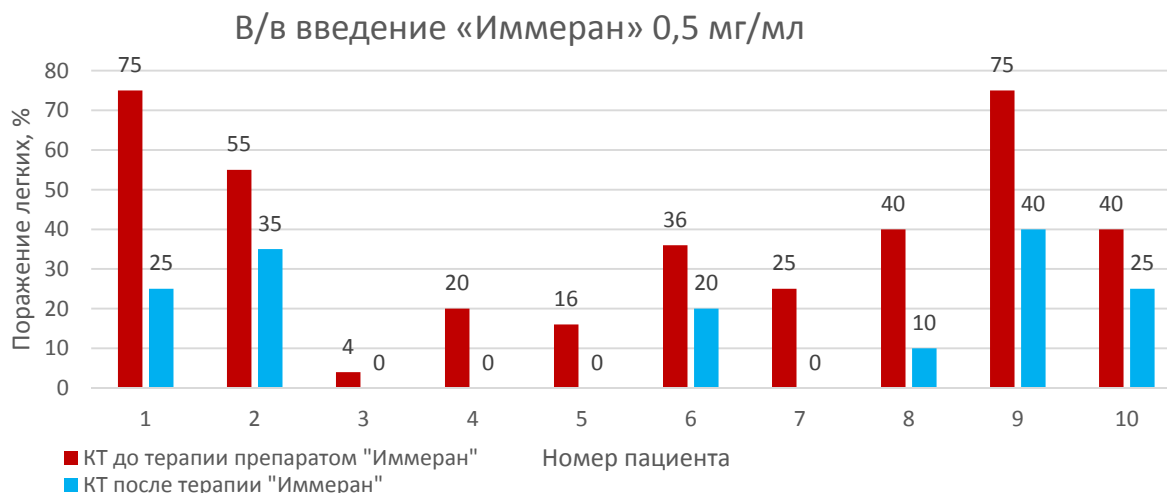


Рисунок 1. КТ данные терапии пациентов с COVID-19 с применением препарата «Иммеран»

Полученные данные позволяют сделать предположение об эффективности применения препарата «Иммеран» у больных коронавирусной инфекции для быстрой стабилизации клинической картины и восстановления паренхимы лёгких.

1. Yueping Li, Zhiwei Xie et al. An exploratory randomized controlled study on the efficacy and safety of lopinavir/ritonavir or arbidol treating adult patients hospitalized with mild/moderate COVID-19 (ELACOI), April 15, 2020. medRxiv 2020.03.19.20038984, DOI: 10.1101/2020.03.19.20038984.

2. Magagnoli J., Narendran S. et al. Outcomes of hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with Covid-19. medRxiv preprint, DOI: 10.1101/2020.04.16.20065920. this version posted April 21, 2020.

3. Liu S., Lien C.Z., Selvaraj P., Wang T.T. Evaluation of 19 antiviral drugs against SARS-CoV-2 Infection bioRxiv 2020.04.29.067983, DOI: 10.1101/2020.04.29.067983.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ В ФОРМИРОВАНИИ АВТОМАТИИ В СИНОАУРИКУЛЯРНОМ УЗЛЕ МЫШИ

Functional Role of the Potassium Channels in the Mouse Node Sinoauricular Automaticity Formation

Головко В.А.¹, Козловская А.В.²

¹ Институт физиологии - обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ «Коми НЦ УрО РАН», г. Сыктывкар, РФ

² Сыктывкарский государственный университет им. П. Сорокина, г. Сыктывкар, РФ, golovko@physiol.komisc.ru

Ритм сердечных сокращений задают работающие в режиме истинного водителя ритма (ИВР) миоциты синоаурикулярного (СА) узла. Эти эмбрионально незрелые мышечные клетки имеют специфический набор ионных каналов: L – тип Cav 1.2 и Cav.1.3, T - тип Cav 3.1, активируемые гиперполяризацией каналы HCN, чувствительные к 4-аминопиридину (АМ), лидокаину и тетродотоксину Nav 1.1 и Nav 1.5 каналы. Однако данные о функциональном вкладе каждого из этих каналов в автоматизм СА узла скудны и противоречивы.

Целью работы было оценить вклад отдельных ионных токов в формирование морфологии потенциалов действия (ПД) с помощью фармакологического анализа в условиях техники микроэлектродных отведений.

Методика. Эксперименты проведены на двухмесячных самцах мышей альбиносов (n=98) массой 30±5 г. Спонтанно бьющиеся полоски размером 3 × 2 × 0,3 мм включали фрагмент *crista terminalis*, сегмент верхней и нижней полых вен. Впервые проанализированы 15 биофизических параметров ПД клеток СА узла мыши, работающих в режиме ИВР. Значимость различий параметров определяли в программе BIOSTAT 4.03, используя непараметрический критерий Вилкоксона для связанных выборок и U-критерий Манна – Уитни для несвязанных. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как средняя арифметическая со стандартной ошибкой.

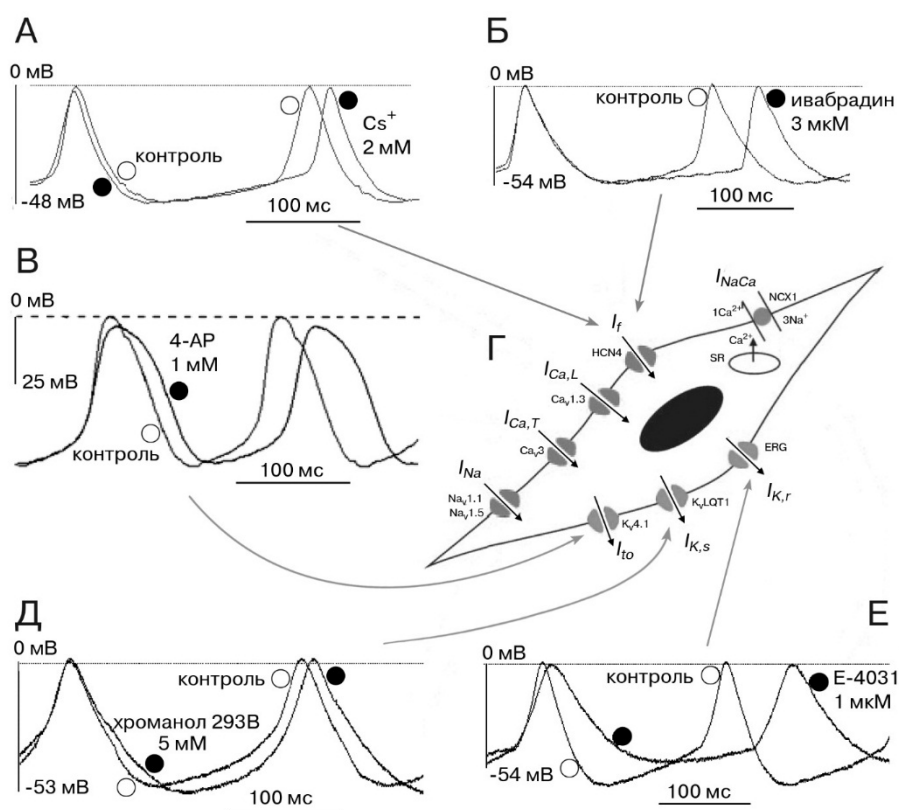


Рисунок 1. Влияние специфических блокаторов ионных каналов на конфигурацию ПД клеток с самой медленной dV/dt_{max} в СА узле мыши. А и Б – эффекты ивабрадина и CsCl; В – эффекты 4-аминопиридина; Д – эффекты хромоанола 293В; Е – эффекты Е 4031; Г – схема ионных токов на сарколемме клетки ИВР

Результаты. Клетки ИВР располагаются вдоль артерии СА узла, имеют самую медленную скорость нарастания ПД в фазу 0 ($dV/dt \approx 3 \pm 1$ В/с) и генерируют ПД с частотой 294 ± 37 имп/мин. Аппликация ивабрадина (3 μ М) и CsCl (2 мМ) замедляла частоту генерирования ПД на 24 и 16% соответственно за счет увеличения длительности фазы медленной диастолической деполяризации (МДД) и замедления ее скорости. Блокатор быстрого выходящего из клетки К-тока (I_{Kr}) – метансульфонанилид дигидрохлорид, E 4031 (0.01 – 1 мкМ) деполяризовал сарколемму, увеличивал длительность ПД на уровне 90% реполяризации и фазу МДД в среднем на 35%. В итоге частота ПД снижалась на 25% по сравнению с контролем. Блокатор медленного выходящего К-тока (I_{Ks}) – хроманол293В (5мкМ) снижал частоту ПД на 7% ($p < 0,05$) за счет увеличения длительности ПД на уровне 90% (ДПД₉₀) на 16%. Блокатор проходящего К-тока (I_{to}) – 4-АМ (0.1- 5 мМ) замедлял частоту ПД на 14% за счет увеличения длительности ДПД₂₀ на 60-70%.

Нифедипин в эффективной концентрации 0.2 мкМ подавлял скорость нарастания ПД на 50%. При этом частота генерации ПД снижалась на 14% за счет увеличения ДПД₅₀. Эффекты блокаторов натриевых каналов – лидокаина и тетродотоксина свидетельствуют, что в клетках СА узла мыши присутствует Na-ток, который вместе с Са-током L- типа участвует в поддержании фазы 0 и фазы МДД.

Полученные данные позволяют заключить, что калиевые K_v 11.1, натриевые Na_v 1.1 и Na_v 1.5, и кальциевые Ca_v 1.3 каналы играют ключевую роль в формировании ПД клеток ИВР сердца мыши и участвуют в модуляции ритма спонтанных сердечных сокращений.

ИССЛЕДОВАНИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ГЕМОГЛОБИНА В РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРОСКОПИИ ЭПР

Study of Hemoglobin Nitrosyl Complexes in Various Model Systems using EPR Spectroscopy

Грачёв Д.И.^{1,2}, Шумаев К.Б.^{2,3}, Рууге Э.К.^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, di.grachev@physics.msu.ru

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, г. Москва, РФ

³ ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва, РФ

Различные комплексы оксида азота (NO) играют важную физиологическую роль, в том числе в сердечно-сосудистой системе. Среди них следует особенно выделить комплексы NO, связанного с гемоглобином. В ряде работ были описаны как комплексы NO с гемовым железом [1], так и динитрозильные комплексы железа, образующиеся на тиоловых группах цистеиновых остатков [2].

В данной работе с помощью спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) исследованы процессы, происходящие с нитрозильными комплексами гемоглобина в условиях, моделирующих галогенирующий (добавление гипохлорита натрия) и нитрозативный (добавление пероксинитрита) стресс. Часть экспериментов была проведена на эритроцитах, полученных из крови человека.

Нами исследовалось изменение концентрации комплексов оксида азота с гемоглобином в условиях, моделирующих галогенирующий и нитрозативный стресс. В частности, было показано, что в присутствии хлорноватистой кислоты (HOCl) также образуется HbNO, хотя кинетика этого процесса более медленная, чем в отсутствие HOCl. Вместе с тем, глутатионовые ДНКЖ в этих условиях разрушаются почти полностью. Предположительно ДНКЖ реагируют с HOCl более эффективно, чем HbNO. При этом регенерации ДНКЖ не происходит даже в присутствии свободного NO. В то же время HbNO внутри эритроцитов может быть менее доступен окислению HOCl. Также было исследовано взаимодействие нитрозильных комплексов гемоглобина с пероксинитритом.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты 18-015-00125 и 19-015-00444.

1. Flavia Dei Zotti, Irina I Lobysheva, Jean-Luc Balligand. Nitrosyl-hemoglobin Formation in Rodent and Human Venous Erythrocytes Reflects NO Formation From the Vasculature *in Vivo* // PLoS One, 2018, vol. 13, № 7, DOI: 10.1371/journal.pone.0200352.

2. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. Dinitrosyl Iron Complexes Bind With Hemoglobin as Markers of Oxidative Stress // Methods in Enzymology, 2008, vol. 436, DOI: 10.1016/S0076-6879(08)36025-X.

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕПТИДОВ КОЖНОГО СЕКРЕТА БЕЗЧЕШУЙЧАТОГО ВИДА РЫБ

Chromato-Mass-Spectrometric Study of Skin Slime Peptides of Fish Without Scales

Грехнева Е.В.¹, Меркулова Н.Л.¹, Чуйкова С.В.², Малышев В.Н.²

¹ Курский государственный университет, г. Курск, РФ, grekhnyovaev@yandex.ru

² ООО «Акватехнологии», г. Курск, РФ

В последнее время активно ведется поиск новых полипептидных препаратов, обладающих биологической активностью. Изучение и систематизация защитных пептидов живых организмов начались сравнительно недавно [1], тем не менее, на их основе уже созданы фармацевтические композиции. Такие препараты представляют собой, как правило, смесь олигопептидов, выделенных из различных тканей и органов животных. К уже известным и широко применимым лекарственным средствам относятся тималин, кортексин, церебролизин, актовегин, солкосерил и др. отечественных и зарубежных производителей. Указанные препараты, как заявляют производители, обладают иммуномодулирующими свойствами, стимулируют процессы регенерации и кроветворения, улучшают течение процессов клеточного метаболизма, проявляют антиагрегационную и противоопухолевую активность, оказывают нейротрофический, нейропротективный, ноотропный, противовоспалительный, антиконвульсанный и противоопухолевый эффекты. Процесс выделения таких пептидов отличается высокой трудоемкостью, длительностью и дороговизной.

При этом недостаточно внимания, по нашему мнению, уделяется изучению свойств и состава органов и тканей рыбы. Особенный интерес в этом плане могут представлять бесчешуйчатые виды рыб, в частности африканский клариевый сом или кларий угревидный. Особенностью данного вида является то, что, не обладая механической защитой в виде чешуи, данный вид вырабатывает на поверхности кожи секрет, призванный выполнять многочисленные защитные функции. Известно, что секреторная жидкость кожи рыб обладает бактерицидными и антисептическими свойствами, ряд исследователей предполагает, что слизь также может выполнять гемостатическую функцию [2].

Данная работа посвящена изучению возможности выделения и анализа пептидов секрета (слизи) клария угревидного. В связи с тем, что данный вид рыбы выращивается в установках замкнутого цикла рядом рыбных хозяйств России, процесс получения слизи не представляет никаких технических трудностей.

Белково-пептидная фракция была выделена осаждением из водно-солевых растворов слизи. Данный процесс включал следующие этапы: растворение слизи в водном растворе соли, удаление механических примесей фильтрованием или центрифугированием, высаливание высокомолекулярной фракции и осаждение пептидов неводным растворителем. После достижения полноты осаждения пептиды отделяли фильтрованием или центрифугированием, промывали на фильтре неводным растворителем и высушили под вакуумом. Полученный продукт представлял собой порошок серо-голубого цвета без запаха, легко растворимый в воде.

Методом ИК-спектроскопии была подтверждена пептидно-белковая природа выделенного продукта (ИК-фурье спектрометр Perkin Elmer Frontier): амид А – ок. 3300, амид В – ок. 3100, амид I – 1654; амид II – 1504 см⁻¹.

Масс-спектрометрический анализ выделенной фракции осуществляли высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) с использованием системы Ultimate 3000 RS («Thermo Scientific», США) в сочетании с масс-спектрометром Q-exactive («Thermo Scientific», США) с орбитальной ловушкой и квадрупольным масс-анализатором. Элюирование проводили на колонке Acquity UPLC Peptide BEH C18 50x2.1 мм с размером частиц 1,7 мкм в градиентном режиме (скорость потока – 0,3 мл/мин; А - 0,1% муравьиная кислота; Б - 90% ацетонитрил, 0,1% водный раствор муравьиной кислоты; от 5 до 50 % Б за 17 мин, далее до 100% Б за 5 мин, после 5 мин промывки возвращались к начальным условиям и уравнивали колонку). МС-анализ проводили на масс-спектрометре Q-exactive в режиме положительной ионизации с использованием источника HESI («Thermo Scientific», США) со следующими параметрами настроек: напряжение на эмиттере 3,5 кВ, температура капилляра 320 °С. Панорамное сканирование проводили в диапазоне масс от 300 до 1500 m/z при разрешении 70 000.

Полученные серии многозарядных ионов для анализируемых пиков также подтверждают пептидную природу анализируемых веществ. В частности, в исследованных экстрактах обнаруживается «пептидный шум» с диапазоном масс порядка 500-3500 Да, в котором наблюдаются особенно интенсивные молекулярные ионы, соответствующие молекулярным массам: 665,72, 681,698, 876,65, 892,62, 2637,43, 2661,27, 2844,35. Из пептидов более высокого массового диапазона (до 10000 Да) наибольшей интенсивностью отличаются ионы, соответствующие Mw – 8930,5 Да.

1. Артеменко К.А., Самгина Т.Ю., Дойл Дж Р., Льюеллин Л.Е., Билусич Д., Бови Дж Х., Лебедев А.Т. Защитные пептиды, выделенные из кожного секрета европейской озерной лягушки *Rana ridibunda* // Масс-спектрометрия, 2007, т. 4 (2), с. 79-88.

2. Фомина Л.Л., Кулакова Т.С., Жунина О.А., Ошуркова Ю.Л., Вайцель А.Э. Оценка гемостатической активности слизи кожи рыб *in vitro* // Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2018, № 4 (40), с. 7-11.

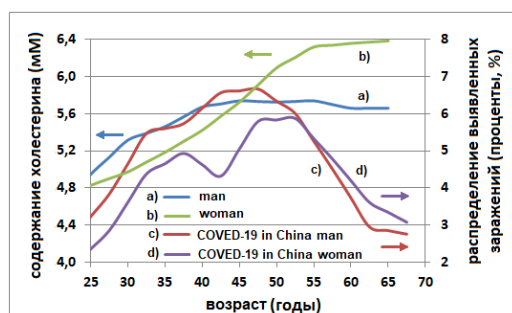
ХОЛЕСТЕРИН КАК ФАКТОР РИСКА ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСОМ SARS-Cov-2 Cholesterol as a Risk Factor for Infection SARS-Cov-2 Virus

Далидчик Ф.И., Балашов Е.М., Ковалевский С.А.

ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, *embalashov@yandex.ru*

В условиях глобального карантина, введённого из-за отсутствия вакцин и эффективных терапевтических препаратов, особое значение приобретает информация о факторах риска заражения вирусом SARS-Cov-2. Хотя первые признаки возможных возрастных и гендерных корреляций стали просматриваться сразу же после официальных сообщений из очага заражения (Ухань, КНР) [1] природа этих корреляций, позже дополненных сообщениями о повышенной частоте заболеваний лиц со второй группой крови [2], а также пациентов, имеющих тяжёлые хронические заболевания [3] или с низким содержанием витамина D [4] и др., всё ещё остаётся неизвестной. Феномен почти полного отсутствия вертикального (внутриутробного) переноса Covid-19 [5] сегодня также не имеет объяснения. Имеются, однако, основания предполагать, что все отмеченные выше корреляции в определённой степени объединяются каким-то общим фактором. Т.е., что многие, на первый взгляд, никак не связанные между собой корреляции [1-5], объединяет некоторый общий признак, т.е. единый фактор, информация о котором может быть полезной при организации профилактических мероприятий. **Таким обобщающим фактором может быть холестерин.**

Холестерин в достаточно больших количествах, соизмеримых с характерными для клеточных рафтов, содержится в липидных оболочках многих вирусных частиц. В частности, коронавирусов. Холестерин играет роль стабилизатора вирусных оболочек, влияет на организацию их белковых компонент, в частности, на S- белки, количеством и состоянием которых определяется инфекционная активность вирионов. В различной степени, зависящей от подтипа вируса и штамма, а также от культуры клетки - хозяина, холестерин участвует во всех биохимических процессах, идущих на всех этапах жизненного цикла вируса - от этапа адсорбции и преодоления



клеточной границы до синтеза генетического материала, сборки, упаковки (на клеточных рафтах) и почкования новых вирионов. Снижение холестерина в клеточных культурах, напр., при воздействии на них β -циклодекстрина, часто сопровождается значительным снижением инфекционной активности вирусов. В подобных случаях количество клеточного холестерина и вероятность вирусного заражения находятся в прямой зависимости. Для Covid-2 на примере возрастных корреляций это было продемонстрировано недавно в работе [6]. Можно предположить, что множество уже известных факторов риска заражения вирусом SARS-Cov-2, в определённой степени, — есть результат повышенной инфекционной активности этого вируса в условиях повышенного содержания холестерина в соответствующих клетках-мишенях. Феномен отсутствия вертикального переноса Covid -19 при таком подходе получает элементарное объяснение (холестерина в клетках плода, как известно, почти нет). "Холестериновую" природу возрастных и гендерных корреляций вероятности заражения, наглядно иллюстрируют зависимости, приведенные на рисунке. (При построении использовались данные работы [1] и справочные данные по холестерину). Влияние холестерина, как основного фактора риска заражения, чётко прослеживается на интервале изменения возраста заболевших Covid -19 до максимумов (~ 45 лет для мужчин и ~ 50 лет для женщин), за которыми определяющими становятся уже другие факторы - факторы выживания больных пациентов.

1. Li H., Wang S., Zhong F., Bao W., Li Y., Liu L., Wang H., He Y. Age-dependent risks of Incidence and Mortality of COVID-19 in Hubei Province and Other Parts of China // *Frontier in Medicine*, 2020, vol. 7, pp. 190, DOI: 10.3389/fmed.2020.00190.

2. Zhao J., Yang Y., Huang H., Li D., Gu D., Lu X., Zhang Zh., Liu L., Liu T., Liu Y., He Y., Sun B., Wei M., Yang G., Wang X., Wang P.G. Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility. *medRxiv*, The preprint server for health sciences. 2020, DOI: 10.1101/2020.03.11.20031096.

3. Fang L., Karakiulakis G., Roth M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? // *The Lancet Respiratory Medicine*, 2020, vol. 8, № 5, pp. e32-e33, DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30159-4.

4. De Smet D., De Smet K., Herroelen P., Gryspeerdt S., Martens G.A. Vitamin D deficiency as risk factor for severe COVID-19: a convergence of two pandemics. *medRxiv*, The preprint server for health sciences. 2020, DOI: 10.1101/2020.05.01.20079376.

5. Garg S., Kim L., Whitaker M., et al. Hospitalization Rates and Characteristics of Patients Hospitalized with Laboratory-Confirmed Coronavirus Disease 2019 – COVID-NET, 14 States, March 1–30, 2020 // *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2020, vol. 69, № 15, pp. 458-464.

6. Wang H., Yuan Z., Pavel M.A., Hansen S.B. The role of high cholesterol in age-related COVID19 lethality. *medRxiv*, The preprint server for health sciences. 2020, DOI: 10.1101/2020.05.09.086249.

ТРИТЕРПЕНОИДЫ ЛУПАНОВОГО РЯДА КАК МОДУЛЯТОРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Lupane Triterpenoids as Modulators of Functional Activity of Rat Liver Mitochondria

Дубинин М.В.¹, Семенова А.А.¹, Выдрина В.А.², Шарапов В.А.¹, Степанова А.Е.¹, Теньков К.С.¹,
Хорошавина Е.И.¹, Белослудцев К.Н.^{1,3}

¹ Марийский государственный университет, г. Йошкар-Ола, РФ, *dubinin1989@gmail.com*

² Уфимский Институт химии УФИЦ РАН, г. Уфа, РФ

³ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ

Поиск новых высокоэффективных препаратов является одной из актуальных задач современной биологии и медицины. К соединениям, сочетающим доступность и биологическую активность, относятся вещества растительного происхождения, в частности, тритерпеноиды различной структуры [1]. В настоящей работе нами изучены митохондриально-направленные эффекты тритерпеноидов лупанового ряда: бетулина и бетулоновой кислоты. В качестве объекта исследования были использованы митохондрии печени крыс линии Wistar, изолированные методом дифференциального центрифугирования [2].

В результате проведенной работы установлено, что бетулин и бетулоновая кислота способны подавлять потребление кислорода митохондриями, вследствие ингибирования комплексов дыхательной цепи органелл (табл. 1). При этом бетулоновая кислота в этом случае более активна, чем бетулин. Это приводит к существенному снижению мембранного потенциала органелл, а также к усилению генерации перекиси водорода органеллами (не показано).

Таблица 1. Активность комплексов дыхательной цепи митохондрий печени крыс в присутствии 20 мкМ бетулина или бетулоновой кислоты (в % от контроля)

Комплекс I	Комплекс II	Комплекс III	Комплекс IV	Комплекс I+III	Комплекс II+III
Бетулин					
98,1 ± 3,2	102,6 ± 2,0	95,2 ± 3,1	98,1 ± 0,6*	100,5 ± 1,8	90,1 ± 0,6*
Бетулоновая кислота					
103,7 ± 4,8	106,8 ± 8,6	75,2 ± 5,0*	78,7 ± 0,5*	103,0 ± 2,3	14,0 ± 1,7*

Примечание. Активность комплексов в отсутствие добавок принята за 100%. Приведены средние значения ± ошибка среднего ($n=3$). *Разница между контролем (без добавок) и экспериментом (в присутствии бетулина или бетулоновой кислоты) является статистически значимой ($p < 0.05$, t -тест).

Кроме того, установлено, что бетулин способен активно влиять на поверхностные свойства мембран митохондрий. Показано, что внесение бетулина к суспензии органелл приводит к их агрегации и может сопровождаться пермеабиллизацией их мембран (рис. 1).

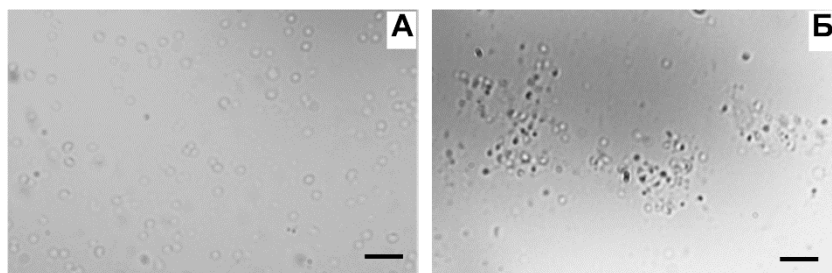


Рисунок 1. Митохондрии печени крыс в отсутствии (А) и в присутствии 50 мкМ бетулина (Б). Шкала – 10 мкм

Полученные результаты свидетельствуют о том, что бетулин и бетулоновая кислота способны оказывать существенное влияние на функционирование митохондрий. В основе эффектов этих тритерпеноидов может лежать ингибирование активности комплексов дыхательной цепи митохондрий, а также агрегация мембран органелл. Это стоит учитывать при разработке новых высокоэффективных лекарственных агентов на основе природных тритерпеноидов лупанового ряда.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№20-015-00124) и гранта президента РФ для поддержки молодых ученых (МК-61.2019.4).

1. Connolly J.D., Hill R.A. Triterpenoids // Nat. Prod. Rep., 2010, vol. 27, pp. 79-132. DOI: 10.1039/b808530g

2. Belosludtsev K.N., Belosludtseva N.V., Agafonov A.V., Pavlik L.L., Tenkov K.S., Samartsev V.N., Dubinin M.V., Penkov N.V., Yashin V.A. Study of the mechanism of permeabilization of lecithin liposomes and rat liver mitochondria by the antimicrobial drug triclosan // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes, 2018, vol. 1860, № 2, pp. 264-271, DOI: 10.1016/j.bbame.2017.09.018.

РЕСВЕРАТРОЛ ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ ОРГАНИЗМА К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Resveratrol Increases the Stability of the Body to Stress Actions

Жигачева И.В.¹, Русина И.Ф.², Васильева С.В.¹.

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, zhigacheva@mail.ru

² ФГБУН Институт химической физики им Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, rusina939@mail

Изучена антиоксидантная и антирадикальная активность природного фитоалексина - ресвератрола (РВ) в сравнении с антирадикальной и антиоксидантной активностью известных антиоксидантов. Антирадикальная активность ресвератрола измерялась методом хемилюминесценции (ХЛ) на модельной реакции инициированного азобисизобутиронитрилом (АИБН) окисления стандартного углеводорода. Эту активность оценивали по скорости выхода свечения на первоначальный уровень по мере расходования введенного в систему ресвератрола. Препарат обладал довольно высокими значениями константы скорости взаимодействия с пероксильными радикалами углеводорода $k_{inh}=(2,36\pm0,4)\times10^5(\text{Mc})^{-1}$ и стехиометрического коэффициента ингибирования свободно-радикальных реакций $f=(2,1\pm0,2)$. Показано, что в низких концентрациях $[\text{РВ}] \leq 10^{-5}\text{M}$ ресвератрол проявлял свойства сильного ингибитора свободно-радикального окисления. Превышение дозы препарата $[\text{РВ}] \geq 10^{-5}\text{M}$ приводило к эффекту прооксидации, по-видимому, за счет участия образующегося в процессе продолжения цепи радикала РВ. Полученные данные свидетельствуют о более высокой антирадикальной активности РВ по сравнению с дибунолом и мексидолом, константы взаимодействия которых с пероксильными радикалами составляет $2,0 - 2,2 \times 10^4(\text{Mc})^{-1}$ для дибунола и $4,7 \times 10^4(\text{Mc})^{-1}$ для мексидола [1].

Исследование антиоксидантной активности РВ на модели «старения» митохондрий показало наличие у препарата высокой антиоксидантной активности. РВ в концентрационном интервале $10^{-5} - 10^{-14}\text{M}$ предотвращал активацию ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс и митохондрий проростков гороха. Отметим, что известные антиоксиданты ионол (дибунол) и мексидол проявляли антиоксидантную активность в интервале $10^{-6} - 10^{-8}\text{M}$ [2,3]. Таким образом, ресвератрол обладает способностью ингибировать ПОЛ в довольно низких концентрациях.

Наличие высокой антирадикальной и антиоксидантной активности у ресвератрола, вероятно, могло свидетельствовать о наличии у препарата антистрессовых свойств. Проверку на наличие этих свойств проводили, используя молекулярно – генетическую модель *E.coli*. Исследование сигнальной, антиоксидантной и антирадикальной активности препарата проводили, сопоставляя с соответствующими показателями других биологически активных веществ, таких как донор NO – ТНКЖ-тио, тиомочевина (ТУ) и мексидол. Испытание различных доз и сочетаний указанных препаратов позволили оценить вклад исследуемых соединений в резистентность клеток к окислительному стрессу, которую оценивали по показателями экспрессии генов *SOS* - и *SoxRS* - ДНК- репарационных систем защиты. Совместная обработка клеток *E.coli* РВ /ТУ и донором NO – ТНКЖ-тио почти в 4-6 раз усиливала ДНК- репарационный процесс клетки.

Кроме того, адаптогенные свойства препарата исследовали, используя модели острого алкогольного отравления (ОАО) и острой гипобарической гипоксии (ОГГ) для крыс, а также дефицита воды (ДВ) для проростков гороха. Острое алкогольное отравление и острая гипобарическая гипоксия в 1,4 - 2 раза увеличивали интенсивность ПОЛ в мембранах митохондрий печени. Введение животным 10^{-9}M РВ за 45 минут до стрессового воздействия предотвращало эту активацию. Протекторный эффект препарат демонстрировал и на митохондриях проростков гороха. Дефицит воды приводил к активации ПОЛ в мембранах митохондрий этилированных проростков гороха, о чем свидетельствовало почти 2-кратное увеличение интенсивности флуоресценции конечных продуктов ПОЛ. Обработка семян гороха $3 \times 10^{-5}\text{M}$ раствором препарата вызывала снижение содержания продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий почти до контрольного уровня. Кроме того, дефицит воды резко тормозил рост проростков. Обработка семян и проростков гороха РВ снижала торможение роста корней и побегов в этих условиях.

На основании полученных данных можно прийти к заключению, что адаптогенные свойства ресвератрола, вероятно, обусловлены его антиоксидантной и антирадикальной активностью. Снижение интенсивности процессов свободно-радикального окисления приводило к снижению интенсивности ПОЛ. Предотвращая активацию ПОЛ, ресвератрол, способствовал сохранению функционального состояния митохондрий и повышал устойчивость организма к действию стрессовых факторов.

1. Русина И.Ф. Хемилюминисцентные методы в исследовании ингибированного окисления. Автореф. к.х.н. М, 2011.

2. Колесников А.В. Синтетический прямой антиоксидант ионол как перспективное антирадикальное средство // Российский медико биологический вестник им. И.П. Пирогова, 2012, № 3, с. 163-167.

3. Усанова А.А., Инчина В.И., Зорькина А.В. Цитопротекторы в коррекции сочетанных метаболических нарушений. Саранск: Вектор-принт, 2009, 119 с.

ДИНАМИКА ТЕМПЕРАТУРНОГО СТАТУСА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ РАЗЛИЧНОГО ГИСТОГЕНЕЗА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Dynamics of Temperature Status of Malignancies of Various Histogenesis: Experimental Study

Зиновьев С.В., Сапрыкина Н.С.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, РФ, svz321@mail.ru

Злокачественные новообразования меняют в процессе развития свою морфо- физиологическую структуру: соотношение клеточного компонента и внеклеточного пространства, развиваются стромальные структуры, сосудистая сеть, пролиферативные процессы сопровождаются инвазией в окружающие нормальные ткани, внутри первичного узла опухоли нарастает объём некротических масс и т.д. [1] Всё выше сказанное приводит к изменению биофизических характеристик опухолей : микровязкости и как следствие, транспортных процессов, тепло и электро- проводности, соотношения процессов теплопродукции и теплодиссипации. Параллельно происходят биохимические и физиологические изменения в опухоли. Всё это, в конечном итоге отражается на кинетике роста опухолей и их чувствительности к действию различных терапевтических агентов.

Разработанный нами метод функциональной микроволновой термографии [2-4] (метод ФМТ) позволяет на основе регистрации временной динамики температурных флуктуаций в первичном узле злокачественного образования определить критические (триггерные) точки его чувствительности к действию терапевтических агентов.

Мы провели сравнительное исследование динамики температурных флуктуаций ряда перевиваемых злокачественных опухолей различного гистогенеза у лабораторных мышей: меланома В-16, карцинома лёгких Льюис (LLC), рак лёгкого (РЛ-67), аденокарцинома толстого кишечника (АКАТОЛ) и др. на фоне введения лабораторным животным ряда химиотерапевтических препаратов: аранозы, ормустина, лизомустина, нитруллина, винкристина. Показано, что глюкозная нагрузка может быть использована для повышения чувствительность метода ФМТ.

Полученная информация по результатам этого исследования значима в практическом плане- для развития нового медицинского метода экспресс-контроля и персонализации противоопухолевой терапии.

1. Осинский С., Ваупель П. Микрофизиология опухолей. К.: Наукова Думка, 2009, 256 с.
2. Зиновьев С.В., Иванов А.В. Функциональная микроволновая термография первичного очага злокачественных новообразований: экспериментальное исследование // Медицинская физика, 2017, № 4 (76), с. 52-597.
3. Зиновьев С.В., Иванов А.В. Радиотермометрический мониторинг при проведении Фото- динамической терапии злокачественных опухолей лабораторных животных // Лазерная медицина, 2017, № 4, т. 21, вып. 4, с. 38-41.
4. Zinovyev S.V. New Medical Technology – Functional Microwave Thermography: Experimental Study // KnE Energy, 2018, vol. 3, p. 547, DOI: 10.18502/ken.v3i2.1864.

РЕАКЦИИ, ИНИЦИИРОВАННЫЕ ДВУХКВАНТОВЫМ ВОЗБУЖДЕНИЕМ СЕНСИБИЛИЗАТОРОВ В ПЛАНКТОННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУРАХ Reactions Caused by Two-Quantum Excitation of Sensitizers in Planktonic Bacterial Cultures

Ишемгулов А.Т., Летута С.Н., Пашкевич С.Н., Никитин А.Н.

Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, РФ, azamat.ischemgulov@yandex.ru

Фотоиницированные реакции в присутствии сенсибилизаторов являются одним из методов, дополняющих и расширяющих сферу применения традиционных способов инактивации микроорганизмов. При этом повреждающее действие на клетки могут оказывать как фотохимические продукты (включая активные формы кислорода), так и физические факторы (локальный нагрев среды или механическое действие образуемых при нагреве пузырьков) [1]. В работе исследованы особенности реакций, вызываемых двухквантовым возбуждением сенсибилизаторов, что может потенциально увеличить число каналов переноса энергии за счёт «включения» в процесс более высоких энергетических уровней [2].

Исследованы планктонные культуры клеток *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis* концентрацией в физрастворе порядка 10^7 КОЕ/мл. В качестве сенсибилизаторов использовались как анионные эозин и эритрозин, так и катионный родамин 6Ж (концентрация в физрастворе 0,01-0,1 мМ). Выбор красителей обусловлен их относительно высокой фотохимической устойчивостью при высоких плотностях мощности возбуждения. Источником возбуждения служила вторая гармоника твёрдотельного YAG:Nd лазера (532 нм) с плотностью мощности возбуждения до 30 МВт/см². Этот лазер также служил накачкой для лазера на красителях (в качестве

активной среды использовался спиртовой раствор родамина Н с максимумом излучения на 580-590 нм). Повреждения бактерий оценивались путём подсчёта колониеобразующих единиц и визуализации клеточных стенок с использованием атомно-силового микроскопа.

Непосредственно в зоне облучения (прохождения луча лазера через кювету) эффективное повреждение бактерий фиксировалось даже при относительно малых плотностях мощности возбуждающего излучения. В этой зоне возможны гипертермия, воздействие на них ударной волной, вызванной тепловыми источниками, повреждение через АФК и перенос энергии со связанных молекул красителей непосредственно на мембраны. Но для гипертермии клеток и безызлучательного переноса энергии необходимо взаимодействие красителей со стенками бактерий или их проникновение внутрь клеток, что в условиях эксперимента происходило не всегда. Например, ксантеновые красители-анионы не взаимодействуют с клетками *E. coli*, стенки которых имеют отрицательный заряд, что ограничивает возможные механизмы их инактивации и свидетельствует о действии АФК либо ударных волн. Вне зоны облучения (на расстояниях до 1 см от лазерного луча) заметного антимикробного действия не обнаруживалось вплоть до плотности мощности возбуждения 5-10 МВт/см². В этом случае первое возбуждённое состояние оказывается заселённым, и с ростом плотности возбуждения начинают заселяться более высокие энергетические уровни. Релаксация таких высоких энергетических состояний происходит преимущественно с выделением тепла (внутренняя конверсия) за очень короткие промежутки времени. Быстрый акт тепловыделения в малом объёме вызывает локальный нагрев среды и образование ударных волн. Именно ударные волны, на наш взгляд, могут распространяться далеко от области возбуждения и вызывать гибель бактериальных клеток вне зоны облучения. На таких расстояниях от области облучения действие других механизмов гибели клеток минимально. Включения в процесс высоких энергетических уровней при двухквантовом возбуждении, способных быстро переводить энергию накачки в тепло, упрощает образование ударных волн и усиливает антимикробный эффект при высоких плотностях мощности возбуждающего излучения.

Полученные результаты могут использоваться при фотоинактивации микроорганизмов в случаях, когда проникновение в среду препаратов или света затруднено.

1. Kashef N. et al. Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale. Review article // Nanophotonics, 2017, vol. 6 (5), pp. 853-879.

2 Летуа С.Н. Фотопроцессы с участием высоких электронно-возбужденных состояний многоатомных молекул. Дис. ... д-ра физ.-мат. наук. Оренбург: изд-во ОГУ, 2003, 301 с.

РОЛЬ НАНОЧАСТИЦ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТАХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ Role of Nanoparticles in the Biological Effects of Electromagnetic Fields

Казаринов К.Д.¹, Чеканов А.В.², Полников И.Г.¹, Титов С.В.¹

¹ ФГБУН Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, г. Фрязино, РФ,
kazarinovkonstantin@yandex.ru

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
Минздрава России, г. Москва, РФ

Интерес к вопросам нанотехнологий насчитывает уже более 25 лет. Разработаны нанотехнологии и наноматериалы на основе серебра, висмута, оксидов железа, углеродных материалов и других веществ, изучены свойства и методы исследования наночастиц для биологии, медицины, ветеринарии, лечебной косметологии. Возможность нанодоставки лекарственных препаратов больному органу имеет важное значение для успешной терапии и персонализированного подхода к лечению – «нужное лекарство нужному больному в нужный момент».

Суспензии, содержащие магнитные наночастицы, начали широко применяться в биомедицинских исследованиях и практической медицине. В нашей работе [1] представлено дальнейшее развитие теории нелинейной магнитной релаксации, и конкретно релаксации систем суперпарамагнитных наночастиц с различными видами анизотропного потенциала (как поверхностного, так и объёмного происхождения) при воздействии внешних электромагнитных полей (ЭМП). Разработаны эффективные численные алгоритмы для оценки характеристик нелинейных релаксационных процессов в системах магнитных наночастиц. Разработан также эффективный метод расчета нелинейного динамического гистерезиса суперпарамагнитных наночастиц, находящихся под воздействием внешних ЭМП для случая произвольной ориентации легких осей частиц.

Результаты наших экспериментов [2,3] показывают роль золотых и серебряных наночастиц, которая заключается в изменении поверхностного заряда на мембранах клеток крови, тем самым меняя их поверхностный мембранный потенциал, что согласно разработанному нами механизму электропорации клеток, стимулирует проводимость мембранной системы за счет образования пор с соответствующими физиологическими последствиями. Связывание наночастицы металла с клеточной мембраной должно приводить к снижению поверхностного натяжения последней и, соответственно, к понижению энергетического барьера

порообразования, а также наведению дополнительного локального электрического поля (увеличению мембранного потенциала).

Механизм уменьшения потенциала пробоя, состоит в снижении потенциального барьера образования пор, которое может происходить, во-первых, за счет изменения поверхностного натяжения мембраны и энергии изгиба кромки поры, во-вторых – изменения поверхностного заряда мембраны (при адгезии заряженных наночастиц), таким образом, увеличивая напряженность внутримембранного электрического поля. В наших предварительных экспериментах мы обнаружили модификацию активности клеток крови при добавлении в суспензию наночастиц золота [2], а в других опытах – наночастиц серебра [3].

Установлено, что наночастицы веществ, которые вводятся в организм человека с различными целями, могут заметно изменить радиочастотное поглощение тканей и жидкостей, что приведет к дополнительному разогреву и соответствующим физиологическим изменениям. Благодаря контролируемой форме поверхности и ее модификации, наночастицы металлов и углеродных нанотрубок способны сцепляться с заранее выбранным видом клеток, отличаясь от здоровых. Связываясь с патологическими клетками и не затрагивая нормальные, такие наночастицы при радиочастотном облучении, дают достаточный локальный разогрев, который способен уничтожить патологические клетки. Эти данные могут оказаться очень важными для использования наночастиц в терапии тяжелых заболеваний. Однако, не следует забывать о проблеме деградации и выведения наночастиц из организма человека после завершения лечебных процедур. Т.е. оптимальный подход использования нанотехнологий требует научного подхода в вопросах нанотоксикологии и безопасности [4].

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН.

1. Coffey W.T., Kalmykov Yu.P., Titov S.V. Thermal Fluctuations and Relaxation Processes in Nanomagnets. Singapore: World Scientific, 2020, 708 p., DOI: 10.1142/11747.

2. Chekanov A.V., Baranova O.A., Levin A.D., Solov'eva E.Yu., Fedin A.I., Kazarinov K.D. Influence of gold nanoparticles on activation of human blood neutrophils // Biophysics, 2013, vol. 58, iss. 3, pp. 385-388.

3. Чеканов А.В., Соловьева З.Ю., Бабушкин А.В., Мудров В.П., Стамм М.В., Баранова О.А., Федин А.И., Казаринов К.Д. Влияние наночастиц серебра на активацию нейтрофилов. Медицинский алфавит // Современная лаборатория, 2014, № 4, с. 50-53.

4. Martina R., Serpe L., Cavalli R., Cravotto G. Enabling technologies for the preparation of multifunctional “bullets” for nanomedicine // Vestnikrgmu.ru, 2018, vol. 6, pp. 145-156.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ ПУЛДИС энергет Р и ПУЛДИС герпофф К НА ЭНЕРГЕТИКУ И ИХ РОЛЬ В ПРОФИЛАКТИКЕ СТАРЕНИЯ И ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫХ БОЛЕЗНЕЙ

The Mechanism of Action of PULDIS Energet R and PULDIS Herpoff K Preparations on Energy and Their Role in the Prevention of Aging and Age-related Diseases

Касумов Э.А., Касумов Р.Э., Касумова И.В.

Научно-производственный центр «КОРВЕТ», г. Домодедово, РФ, kasumov_eldar@mail.ru

В современной медицине преждевременное старение, а также болезни, такие как рак, диабет, опоясывающий герпес, остеопороз и другие являются актуальными и неразрешенными проблемами. Многие ученые не сомневаются в том, что в основе этих и других болезней лежит нарушение энергетического статуса организма. Организм получает основную энергию в виде АТФ (около 50 кг в сутки), в основном, от окислительного фосфорилирования в митохондриях, а небольшую часть от гликолиза. В раковых клетках основная энергия получается от гликолиза, где подавляется функция митохондрий (митохондрии находятся в набухшем состоянии, что приводит к гиперполяризации внутренней мембраны). Сравнение митохондрий молодых и старых организмов тоже показывает, что структура митохондрий в старых организмах (появление мегамитохондрий и уменьшение крист) отличается от структуры митохондрий молодых организмов [1]. Предполагается, что причиной возникновения рака и старения является избыточное количество активной формы кислорода (АФК), которое образовывается, как мы предполагаем, в набухших митохондриях. Аналогичное явление наблюдается, также при длительной гипоксии. Однако, по мнению Высоких и др. [2] образование АФК находится в тесной связи со слабой деполяризацией внутренней митохондриальной мембраны, что является важнейшим компонентом антивозрастной программы. Подобно слабой деполяризации, SkQ1 снижает уровень АФК, особенно в митохондриях [2]. В то же время, авторы отмечают, что, к сожалению, детали молекулярного механизма образования АФК остаются непонятным и считают, что участок образования АФК находится в Комплексе I, однако, как известно [3], и как мы утверждаем, образование АФК в митохондриях должно происходить в участках переносчиков ЭТЦ вплоть до, включая цитохром bc1 комплекса, согласно механо-хемиосмотическому механизму сопряжения [4]. К тому же слабая деполяризация является одной из компонентов механо-хемиосмотического механизма сопряжения синтеза АТФ, переноса электронов и низкоамплитудного набухания-сокращения митохондрий, где последнее выполняет регуляторную функцию переноса электронов,

следовательно, образования АФК. Из-за отсутствия фундаментальных знаний механизма синтеза АТФ в митохондриях и его связи со структурными изменениями митохондрий в настоящее время невозможно решить проблемы ни многих болезней, ни старения. В итоге, поиск лекарств в этих областях носит случайный характер, а не опирается на научные знания, которые, к сожалению, отчасти и отсутствуют. Для решения проблемы поиска препаратов против онкологических болезней, старения и некоторых других мы предлагаем иной подход, в отличие от тех, имеющих в арсенале исследователей. Согласно механо-хемиосмотическому механизму [4] (анимация <http://www.youtube.com/watch?v=PgKoKnVvBi4>) в функционировании АТФ синтетазы играют важную роль остатки аргинина и лизина, которые содержатся, также в больших количествах в гистоновых белках, мышечном актине, участвуя в трансформации энергии. Нами разработаны и зарегистрированы препараты ПУЛДИС энергет Р и ПУЛДИС герпофф К, содержащие L-аргинин и L-лизин, соответственно. Протонирование и фосфатизация остатков лизинов и аргининов в двух скрученных нитях за счет электростатического взаимодействия одноименных зарядов в электрическом поле приводит к выполнению работы. L-аргинин и L-лизин играют главную роль в противодействии старению и со старением связанных болезней, а L-лизин, в том числе против остеопороза и герпеса.

1. Vays V.B., Eldarov Ch.V., Vangely I.V., Kolosova N.G., Bakeeva L.E., Skulachev V.P. Antioxidant SkQ1 delays sarcopenia-associated damage of mitochondrial ultrastructure // *Aging* (Albany N.Y.), 2014, vol. 6, № 2, pp. 140-148, DOI: 10.18632/aging.100636

2. Vyssokikh M.Y., Holtze S., Averina O.A., Lyamzaev K.G., Panteleeva A.A., Marey M.V., Zinovkin R.A., Severin F.F., Skulachev M.V., Fasel N., Hildebrandt T.B., Skulachev V.P. Mild depolarization of the inner mitochondrial membrane is a crucial component of an anti-aging program // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 2020, vol. 117, № 12, pp. 6491-6501, DOI: 10.1073/pnas.1916414117

3. Dröse S., Brandt U., The mechanism of mitochondrial superoxide production by the cytochrome bc1 complex // *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, № 31, pp. 21649-54, DOI: 10.1074/jbc.M8032362001.

4. Kasumov E.A., Kasumov R.E., Kasumova I.V. A mechano-chemiosmotic model for the coupling of electron and proton transfer to ATP synthesis in energy-transforming membranes: a personal perspective // *Photosynth Res.*, 2015, vol. 123, № 1, pp. 1-22, DOI: 10.1007/s11120-014-0043-3.

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМИ СИНДРОМАМИ

Organization and Features of Red Blood Cell Membrane in Children with Myelodysplastic Syndromes

Климкович Н.Н.¹, Зубрицкая Г.П.², Козарезова Т.И.¹, Слобожанина Е.И.²

¹ Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Беларусь, det.hematology@mail.ru

² Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

Миелодиспластические синдромы (МДС) относятся к редким и потенциально летальным заболеваниям крови, носят клональный характер и возникают в результате мутации кроветворной стволовой клетки. Известно, что одной из составляющих неэффективного эритропоэза при МДС является внутрикостномозговой гемолиз. Одной из причин гемолитического компонента в данном случае являются мембранные дефекты. При исследованиях морфологии эритроцитов у пациентов с МДС в 90% случаев обнаруживаются множественные изменения формы клеток. Например, овалоцитоз встречается у 75% пациентов с вариантами МДС, сопровождающимися делецией хромосомы 20. Нарушения структуры мембранных белков при МДС регистрируются примерно в 20 % случаев, в основном – это дефицит белков полос 3, 4.1, 4.2 и 7.

В настоящем исследовании физико-химического состояния липидного бислоя мембран эритроцитов проведено с использованием липофильных флуоресцентных зондов: пирена, дифенилгексатриена (ДФГ) и триметиламмониевой соли дифенилгексатриена (ТМА-ДФГ). Уровень SH-групп белков исследован с помощью двух независимых методов: флуоресцентного (с использованием зонда N-(1-пирен)-малеимида (ПМ)) и спектрофотометрического (с помощью реактива Элмана).

Установлено, что средние значения $K_{\text{экс}}$ пирена ($0,87 \pm 0,19$ отн.ед.) в группе пациентов с МДС не имели статистически значимых различий с контрольными значениями ($0,94 \pm 0,04$ отн.ед.). При анализе изменения флуоресцентного показателя пирена, связанного с эритроцитарными мембранами, в зависимости от количества бластных клеток в костном мозге (КМ) при МДС оказалось, что значения $K_{\text{экс}}$ пирена, включенного в тени эритроцитов детей, зависели от количества бластных клеток и были снижены по сравнению с контролем при вариантах, сопровождающихся увеличением бластов КМ более 5% ($0,59 \pm 0,16$ отн.ед.). Можно предположить, что этот факт объясняется более выраженными диспластическими изменениями в клетках эритроидной линии при наличии бластоза КМ.

Средние значения анизотропии флуоресценции ТМА-ДФГ в мембранах эритроцитов детей с МДС были снижены на 30% по сравнению с контрольными значениями. Так как известно, что анизотропия флуоресценции ТМА-ДФГ отражает упаковку жирно-кислотных цепей мембранных липидов, то полученные данные

свидетельствуют об изменении микровязкости липидного бислоя мембран. Параллельно выявлено статистически значимое увеличение интенсивности флуоресценции ТМА-ДФГ в мембранах эритроцитов при МДС по сравнению с контрольной группой. В экспериментах с ДФГ получены сходные результаты: поляризация флуоресценции ДФГ в эритроцитарных мембранах детей с МДС была снижена на 28% по сравнению с контролем, а интенсивность флуоресценции ДФГ, включенного в мембраны эритроцитов детей с МДС была выше по сравнению с контролем на 20%.

В качестве показателя, характеризующего структурное состояние белковых компонентов эритроцитарных мембран, была выбрана собственная и зондовая люминесценция. Спектры флуоресценции триптофанового компонента мембранных препаратов регистрировали при возбуждении светом $\lambda=297$ нм (в этой области практически отсутствует поглощение тирозина). Измерение интенсивности флуоресценции белков производили при $\lambda = 340-345$ нм. Установлено, что значения интенсивности флуоресценции белков эритроцитарных мембран в группе МДС ($2,48 \pm 0,12$ отн.ед.) были повышены по отношению к контролю ($1,78 \pm 0,04$ отн.ед.), $p=0,03$.

Результаты проведенных исследований показали, что интенсивность флуоресценции ПМ, связанного с SH-группами белков, снижалась в мембранах эритроцитов детей, страдающих МДС, по сравнению с контрольными образцами. Аналогичные результаты по снижению SH-групп были получены и при использовании спектрофотометрического метода. Обнаружено, что у детей, страдающих МДС, общее количество SH- групп в эритроцитарных мембранах было примерно на 20-40 % ниже по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что в мембранах эритроцитов и лимфоцитов периферической крови происходит изменение микровязкости липидного бислоя. Также в мембранах эритроцитов детей с МДС независимо от варианта течения заболевания происходит окисление белков и нарушение структурного состояния белковых компонентов, что может являться причиной диспластических изменений эритроцитов, выявляемых при морфологическом исследовании периферической крови и костного мозга.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИКЛОСПОРИН D - МИЦЕЛЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА МЕТОДОМ ЯМР ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ: ПОЛУЧЕНИЕ ИНФОРМАЦИИ О ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЕ

Studying Cyclosporin D – Micelle Complex by High-resolution NMR: Obtaining Information on the Spatial Structure

Кобчикова П.П., Ефимов С.В., Клочков В.В.

Казанский федеральный приволжский университет, г. Казань, РФ, pollymoon@ya.ru

Большой интерес к циклическим пептидам в качестве основы для разработки лекарств против сложных мишеней, таких как межбелковые взаимодействия существовал всегда. Предпосылкой к такому интересу было то, что большие макроциклы лучше подходят для ингибирования больших поверхностей связывания. Установление конформаций циклических пептидов может дать более глубокое представление о взаимосвязях структура-активность и структура-свойство, что может помочь в разработке соединений с улучшенными характеристиками биологической активности и/или ADME [1].

Значительный прогресс в трансплантации в последние десятилетия связан с разработкой и внедрением иммунодепрессантов в клиническую практику, которые повышают выживаемость как пациентов, так и трансплантатов [2].

Для более глубокого понимания механизма действия циклоспорина его следует рассматривать в сочетании с мицеллами. Поскольку мицеллы можно использовать для моделирования биологических мембран (на базовом уровне), такой эксперимент позволит нам сделать определенные выводы относительно конформации циклоспорина при взаимодействии с клеткой.

Циклоспорин D является «родственником» циклоспорина А, иммунодепрессанта, который связывается с циклофилином, ингибируя фосфатазную активность кальциневрина в Т-клетках. Молекула CsD состоит из 11 аминокислот.

Различные тенденции вариантов циклоспорина А, D и т. д. к образованию комплексов с белками (особенно с циклофилинами) приводят к наблюдаемым различиям в их биологической активности. CsD нас интересует, потому что возникает вопрос о значении конформации как основного фактора, влияющего на свойства вещества. Единственная разница между циклоспоринами CsD и CsA заключается во втором аминокислотном остатке.

Измерения проводились на спектрометре Bruker Avance III HD 700. Приписывание сигналов на спектрах ЯМР проводилось с использованием комбинации двумерных спектров: DQF-COSY, TOCSY, HSQC и HMBC, записанных при 25 °С. А также метод ROESY использовался для получения структурных параметров (расстояний между ядрами).

Замена второго остатка различными аминокислотами влияет, главным образом, на химические сдвиги основной цепи в положениях 2, его соседях 1 и 3 и в более отдаленных положениях 5 (валин) и 8 (D-аланин). Остатки 5 и 8 были наиболее чувствительными к аминокислотному замещению в положении 2.

В экспериментах с мицеллами DPC наблюдается сильное перекрытие сигналов в области сильного поля (боковые цепи); тем не менее, мы все еще можем приписать сигналы главной цепи. Приписывание боковых цепей и их сигналов должно быть выполнено заново, поскольку новый спектр отличается от того, что мы наблюдали в хлороформе. Поскольку спектры были записаны в тяжелой воде, сигналы всех групп α -CH выглядят достаточно хорошо. Изменения их резонансных частот позволяют сделать вывод, что конформация боковой цепи стала другой после связывания пептидных молекул с мицеллами, как это было сообщено в [3] для CsA.

1. Gombar VK, Silver IS, Zhao Z., Role of ADME characteristics in drug discovery and their in silico evaluation: in silico screening of chemicals for their metabolic stability // Curr. Top. Med. Chem, 2003, vol. 3, № 8, pp. 1205-1225, DOI: 10.2174/1568026033452014.

2. Craik D.J. Seamless proteins tie up their loose ends // Science, 2006, vol. 311, pp. 1536-1564.

3. Bernardi F., D'Amelio N., Gaggelli E., Molteni E., Valensin G. Solution Structures of Cyclosporin A and Its Complex with Dysprosium(III) in SDS Micelles: NMR and Molecular Dynamics Studies // J. Phys. Chem. B., 2008, vol. 112, pp. 828-835, DOI: 10.1021/jp076837z.

МОДЕЛИРОВАНИЕ МУТАНТНОЙ ФОРМЫ ИНОЗИН ТРИФОРСФАТ ПИРОФОСФОГИДРОЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА ITPA-P32T И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ МОДИФИКАЦИИ ФЕРМЕНТА

Modeling of Mutant Human Inosine Triphosphate Pyrophosphohydrolase ITPA-P32T and Potential Chemical Enzyme Modifications

Колтовая Н.А.

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, koltovaya@jinr.ru

Аналоги оснований являются мощными антиметаболитами и опасными мутагенами, генерируемыми эндогенно в условиях оксидативного стресса, воспаления и aberrантного синтеза нуклеотидов. Инозин трифосфат пирофосфогидролаза человека (ИТРА) гидролизует трифосфаты неканонических пуриновых оснований (ITP, dITP, XTP, dXTP) и, таким образом, регулирует пул нуклеотидов и защищает клетки от повреждений ДНК. Полиморфная аллель 94C>A, кодирующая фермент с заменой P32T, приводит к накоплению ИТР. Белок P32T-ИТРА утрачивает ферментативную активность в эритроцитах и ассоциирует с неблагоприятной реакцией на пуриновые аналоги, используемые при лечении рака крови, трансплантации и воспалительных заболеваниях кишечника. Механизм инактивации полиморфной формы P32T-ИТРА не известен. Моделирование мутантной формы фосфогидролазы показало, что происходит ослабление связи между двумя субъединицами [1]. Действительно, экспериментальные данные показывают, что фермент менее стабилен, но активен *in vitro* [2]. Выдвинутая в литературе гипотеза о выталкивании гидрофобного остатка наружу, что служит сигналом для деградации белка [3], не подтвердилась при моделировании.

Для понимания механизма инактивации *in vivo* необходимо более детальное рассмотрение молекулярных механизмов экспрессии гена. Оказалось, что возможен альтернативный сплайсинг и образование трех форм, в разных тканях пропорции этих форм разнятся. При белковом электрофорезе наблюдаются множественные полосы [4]. Используя программы, определяющие потенциальные сайты химической модификации, удалось определить сайты фосфорилирования, убиквитинирования и сумойлирования. Предполагается, что химические модификации участвуют в регуляции локализации белка и его активности. Предлагаются гипотетические механизмы. Полученные результаты позволяют планировать дальнейшую экспериментальную проверку наличия модифицированных форм и моделирование возможных последствий.

1. Dushanov E.B., Koltovaya N.A. Effect of substitution Pro32Thr on the interaction between dimer subunits of human phosphatase ITPA // Current Enzyme Inhibition, 2019, vol. 15, iss. 1, pp. 46-54, DOI: 10.2174/1573408015666190327174841.

2. Stepchenkova E.I., Tarakhovskaya E.R., Spitler K., Frahm C., Menezes M.R., Simone P.D., Kolar C., Marky L.A., Borgstahl G.E., Pavlov Y.I. Functional study of the P32T ITPA variant associated with drug sensitivity in humans // Journal of Molecular Biology, 2009, vol. 392 (3), pp. 602-613.

3. Simone P.D., Struble L.R., Kellezi A., Brown C.A., Grabow C.E., Khutsishvili I., Marky L.A., Pavlov Y.I., Borgstahl G.E.O. The human ITPA polymorphic variant P32T is destabilized by the unpacking of the hydrophobic core // Journal of Structural Biology, 2013, vol. 182, pp. 197-208.

4. Waisenberg I.S.-R., Menezes M.R., Randazzo J., Pavlov Y.I. Elevated levels of DNA strand breaks induced by a base analog in the human cell line with the P32T ITPA variant // Journal of Nuclear Research, 2010, DOI: 10.4061/2010/872180.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИЙ В МОЛЕКУЛЕ БЕЛКА ДРОЖЖЕВОЙ АРГИНИН ПЕРМИАЗЫ CAN1

Landscape of Mutation Substitutions of Yeast Arginine Can1 Permease

Колтовая Н.А., Душанов Э.Б.

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, koltovaya@jinr.ru

Молекулярные функции белка тесно связаны со структурой. Понимание как структура и функция изменяются в результате мутации важно для объяснения, как формируется патологический фенотип. На уровне нуклеотидной последовательности удалось выявить некоторые закономерности возникновения мутаций, например, превышение частоты транзиций над трансверсиями, однонуклеотидные выпадения в поли-стрэчах, возникновение горячих точек рекомбинации, нейтральность замены в третьем нуклеотиде кодона и т.д. Однако на закономерности мутагенеза влияют не только особенности нуклеотидной последовательности, но и селекция на уровне белка. Некоторые мутации нейтральны и не приводят к замене аминокислоты или не меняют знак аминокислоты, другие локализованы в неактивных участках белка. Какова реальная картина распределения возможных мутаций, инактивирующих фермент? Какова локализация «белых пятен», мутации в которых не нарушают функционирование фермента? Насколько занижена оценка частоты возникновения мутаций? Как сильно частота мутаций отличается для разных белков? Для ответа на эти вопросы необходим анализ конкретных данных по разным системам.

При изучении закономерностей мутагенеза у дрожжей часто используют возникновение прямых мутаций в гене аргинин пермиазы *CAN1*, инактивация которого приводит к устойчивости к канаванину. Включение аминокислот в клетки дрожжей опосредуются ~16 плазмo-мембранными пермиазами, большинство из которых принадлежат к APC суперсемейству транспортеров, найденных во всех живых организмах, включая человека, растения и прокариоты. Эти белки проявляют разный субстратный диапазон. Например, основная аминокислотная пермиаза *Gap1* транспортирует все аминокислоты. В то время как *Alp1*, *Can1* и *Lyp1* имеют различную узкую специфичность. *Alp1* транспортирует только аргинин, *Can1* транспортирует аргинин более эффективно, чем лизин, в то время как *Lyp1* включает эффективно только лизин.

Транспорт аминокислот через мембраны клеток осуществляется при помощи **вторичного активного** транспорта и **глутатионовой** транспортной системы. Вторичный активный транспорт – это перенос веществ, в данном случае аминокислот, чаще всего с использованием градиента концентрации натрия между внутренней и наружной сторонами клеточной мембраны. Низкая концентрация ионов натрия внутри клеток создается мембранным ферментом Na^+, K^+ -АТФазой. Специфический белок-транспортер связывает аминокислоту и ион натрия. В отсутствие натрия аминокислота **не в состоянии** связаться с белком-переносчиком. Затем, изменив свое положение в мембране, белок отдает ион натрия в цитозоль по градиенту концентрации. Сразу после этого аминокислота теряет связь с белком и остается в цитоплазме. Однако включение аргинина зависит от протонного насоса. *Can1* катализирует H^+ /аргинин симпорт. Для переноса нужна протон-движущая сила.

Пермиазы по структуре аналогичны и состоят из 12 трансмембранных спиралей, фланкирующих гидрофильный хвост, направленный в цитоплазму. Аргининовая пермиаза – гомодимер и состоит из 590 аа. В базе данных PDB имеется несколько структур пермиаз для разных организмов: 1PV6, 1PV7, 3L1L. Используя их, построили модельную структуру пермиазы *Can1*. В нашем распоряжении были нуклеотидные последовательности ~100 мутантов, отобранных спонтанно или полученных при облучении УФ – и гамма-лучами, а также тяжелыми ионами. Будут приведены результаты анализа специфики локализации мутаций *can1* и обоснования связи структурных и функциональных изменений.

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА – ПЕРЕХВАТЧИКИ ПЕРОКСИНИТРИТА И ПРОТЕКТОРЫ ГЕМОГЛОБИНА

Dinitrosyl Iron Complexes - Peroxynitrite Scavengers and Hemoglobin Protectors

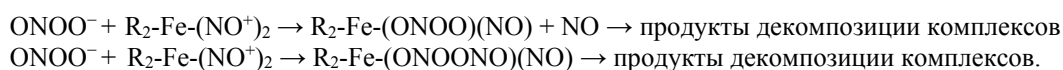
Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Топунов А.Ф., Шумаев К.Б.

ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ, tomorov@mail.ru

В настоящее время считается, что динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) являются основной рабочей формой оксида азота (NO) в организме [1]. Помимо способности депонировать и переносить NO, эти соединения обладают антиоксидантными, антирадикальными и цитопротекторными свойствами [2-5]. Низкомолекулярные ДНКЖ с тиольными лигандами имеют общую формулу $[(\text{RS})_2\text{-Fe}^+-(\text{NO})_2]$ и в организме всегда существуют в равновесии с белок-связанными ДНКЖ, которые формируются при участии тиоловых и некоторых других групп белков. Вместе с тем, другой метаболит NO – пероксинитрит (ONOO^-) действует как сильный окислитель и нитрующий агент [6]. Известно, что главной мишенью пероксинитрита в крови является гемоглобин.

С использованием спектроскопии ЭПР установлено, что ONOO^- вызывает разрушение ДНКЖ, связанных с гемоглобином (Нб-ДНКЖ). В то же время после добавления тиолов (цистеина и глутатиона) в реакционную среду, содержащую Нб-ДНКЖ и ONOO^- , регистрируется сигнал ЭПР характерный для моонитрозильного комплекса железа. Этот сигнал увеличивается во времени, что указывает на регенерацию парамагнитных нитрозильных комплексов железа из промежуточных интермедиатов образующихся при взаимодействии ONOO^- и гемоглобиновых ДНКЖ. На способность динитрозильных комплексов железа перехватывать ONOO^- указывает увеличение лаг-фазы и снижение выхода люминол-зависимой хемилюминесценции при введении глутатионовых ДНКЖ в систему, моделирующую синтез пероксинитрита. Кроме того, ДНКЖ с глутатионовыми и фосфатными лигандами ингибируют окисление дигидрорадамина пероксинитритом.

Обнаружено, что как низкомолекулярные глутатионовые ДНКЖ, так и ДНКЖ, связанные с самим гемоглобином, защищают этот гемопротеид от вызванной пероксинитритом окислительной модификации. ДНКЖ ингибируют окисление триптофановых и тирозиновых остатков, а также образование карбонильных производных в белковой части гемопротеина. Вместе с тем, различные варианты ДНКЖ препятствуют формированию ковалентных сшивок между субъединицами гемоглобина и предотвращают деградацию его гемовой группы. Эти эффекты могут быть связаны с восстановлением оксоферрильной формы гема [3], которая образуется при действии пероксинитрита на гемоглобин. Также, ДНКЖ могут непосредственно перехватывать ONOO^- и свободные радикалы, возникающие при его гомолизе. В случае глутатионовых ДНКЖ в этих процессах, по-видимому, участвуют тиольные лиганды. Нельзя исключить, что в реакциях ДНКЖ с ONOO^- образуются промежуточные интермедиаты, например, комплексы, содержащие связанный пероксинитрит [2,4], либо нитрозилпероксинитрит (ONOONO) [7]:



Мы полагаем, что реакционная активность продуктов декомпозиции этих интермедиатов отличается от свободного пероксинитрита, а также продуктов его гомолиза (гидроксильного радикала и диоксида азота).

Полученные результаты позволяют считать, что динитрозильные комплексы железа являются перехватчиками ONOO^- , причём Нб-ДНКЖ посттрансляционной модификацией гемоглобина, защищающей этот белок в условиях окислительного и нитрозативного стресса. Работа поддержана грантами РФФИ № 18-015-00125 и 19-015-00444.

1. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes as a “working form” of nitric oxide in living. Cambridge Scholars Publishing, 2019, 265 p.

2. Лобышева И.И., Сереженков В.А., Ванин А.Ф. Взаимодействие динитрозильных тиолсодержащих комплексов железа с пероксинитритом и перекисью водорода *in vitro* // Биохимия, 1999, т. 64, № 2, с. 194-200.

3. Шумаев К.Б., Петрова Н.Э., Заббарова И.В., Ванин А.Ф., Топунов А.Ф., Ланкин В.З., Рууге Э.К. Взаимодействие оксоферрилмиоглобина и динитрозильных комплексов железа // Биохимия, 2004, т. 69, № 5, с. 699-705.

4. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress // Methods in Enzymology, 2008, vol. 436, pp. 445-461.

5. Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O.V., Grigorieva D.V., Panasenkov O.M., Vanin A.F., Topunov A.F., Terekhova M.S., Sokolov A.V., Cherenkevich S.N., Ruuge E.K. Protective Effect of Dinitrosyl Iron Complexes with Glutathione in Red Blood Cell Lysis Induced by Hypochlorous Acid // Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, vol. 2019, Article ID 2798154, 12 pages, DOI: 10.1155/2019/2798154.

6. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // Physiol. Rev., 2007, vol. 87, № 1, pp. 315-424, DOI: 10.1152/physrev.00029.2006.

7. Tran N.G., Kalyvas H., Skodje K.M., Hayashi T., Moënne-Loccoz P., Callan P.E., Shearer J., Kirschenbaum L.J., Kim E. Phenol nitration induced by an $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^{10}$ dinitrosyl iron complex // JACS, 2011, vol. 133, № 5, pp. 1184-1187.

АКТИВАТОР NRF-2 ЗАЩИЩАЕТ КЛЕТКИ С ТРИПЛИКАЦИЕЙ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА ОТ ГИБЕЛИ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ С ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА И СНИЖАЕТ СКОРОСТЬ ПРОДУКЦИИ АФК

NRF-2 Activator Protects Cells with Alpha-synuclein Triplication from Death in Conditions of Acute Toxicity with Hydrogen Peroxide and Reduces the Rate of ROS Production

Крицкая К.А., Федотова Е.И., Бережнов А.В.

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН «ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ, kritskayak96@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – одно из распространенных нейродегенеративных заболеваний, сопровождающееся гибелью нейронов черной субстанции и развитием окислительного стресса. Стратегии

лечения окислительного стресса антиоксидантами прямого действия не показали значительного эффекта в клинических исследованиях БП, в связи с чем становится актуальным поиск новых защитных воздействий, влияющих на собственную антиоксидантную систему клетки. Одним из таких подходов является активация Nrf-2 сигнального пути, участвующего в транскрипции генов белков антиоксидантной защиты клетки [1].

Для оценки жизнеспособности фибробластов с трипликацией гена, кодирующего альфа-синуклеин SNCA, взятых у донора с установленной БП использовали метод двойного окрашивания клеток (Hoechst 33342 – Propidium Iodide). Исследования были произведены на флуоресцентном микроскопе. Контролем были фибробласты от здорового донора. Было показано, что в контрольных условиях жизнеспособность фибробластов с трипликацией SNCA не отличается от контрольных клеток, но в стрессовых условиях (с добавлением перекиси водорода 200 мкМ на 2 часа) обнаружено значимое снижение жизнеспособности фибробластов SNCA на 25% по сравнению с контрольными клетками. Предварительная 24-часовая инкубация клеток с 50 нМ активатора Nrf-2 RTA-408 увеличила жизнеспособность фибробластов с трипликацией SNCA в стрессовых условиях с перекисью водорода до уровня контрольных клеток без мутации.

Высокая скорость продукции активных форм кислорода (АФК) в клетках при нарушении механизмов утилизации АФК напрямую связана с развитием окислительного стресса. Помимо этого, считается, что одной из причин массовой гибели клеток при БП может быть их высокая чувствительность к АФК и окислительному стрессу [2].

Для измерения скорости АФК-продукции в фибробласты был загружен флуоресцентный зонд H2DCF и проведена временная запись его кинетики. Было обнаружено, что в нормальных условиях скорость АФК-продукции фибробластов с трипликацией SNCA значимо в 2 раза выше, чем в контрольных. Предварительная 24-часовая инкубация клеток с 50 нМ RTA-408 снизила скорость АФК-продукции в клетках с трипликацией SNCA до уровня контрольных клеток без трипликации.

Таким образом, активация Nrf-2 оказывает защитное действие на клетки с трипликацией гена SNCA и снижает продукцию АФК в таких клетках в условиях стресса.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-34-70074 с использованием уникальной научной установки: «Флуоресцентная станция Axio Observer Z1 со встроенным микроинкубатором, электрофизиологической установкой «patch clamp», оснащенная камерой Hamamatsu ORCA-Flash».

1. Angelova P.R., Abramov A.Y. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration // FEBS Letters, 2018, vol. 592 (5), pp. 692-702, DOI: 10.1002/1873-3468.12964.

2. Esteras N., Dinkova-Kostova A.T., Abramov A.Y. Nrf2 activation in the treatment of neurodegenerative diseases: A focus on its role in mitochondrial bioenergetics and function // Biological Chemistry, 2016, vol. 397 (5), pp. 383-400, DOI: 10.1515/hsz-2015-0295.

РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО CeO₂ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОСЛОЖНЁННОГО КАРИЕСА

Regenerative Abilities of Nanocrystalline CeO₂ in the Treatment of Complicated Caries

Лукин А.В.¹, Иванов В.К.², Баранчиков А.Е.², Прокопов А.А.¹, Лукина Г.И.¹

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, г. Москва, РФ

² Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, г. Москва, РФ, lukantik@gmail.com

В своей практике врач-стоматолог часто встречается с различными формами осложнённого кариеса, лечение которых иногда безуспешно или затягивается во времени [1]. Для эффективной терапии могут быть использованы препараты, стимулирующие основные функции клеток и тканей зуба, периодонта. Перспективным материалом для решения данной задачи является нанокристаллический диоксид церия (CeO₂), характеризующийся высокой биологической активностью и низкой токсичностью. В исследованиях *in vitro* доказано, что нанокристаллический CeO₂ обеспечивает улучшенную пролиферацию клеток, в том числе остеобластов, обеспечивает антибактериальный и противовирусный эффект, уменьшает сроки регенерации ряда тканей. Способность нанокристаллического CeO₂ выполнять функции ферментов (в том числе оксидоредуктаз) помогает купировать патологические процессы, связанные с окислительным стрессом [2].

Целью работы является анализ возможности использования временных пломбировочных материалов на основе гидроксида кальция, модифицированных нанокристаллическим CeO₂, в терапии осложнённого кариеса.

Методом рентгенофазового анализа показана совместимость (отсутствие взаимодействия) нанокристаллического CeO₂ с пломбировочными материалами на основе гидроксида кальция (Ca(OH)₂). Результаты морфометрии, полученные в экспериментальных исследованиях (*in vivo*), показали снижение интенсивности деструктивных процессов воспаления за счет антиальтерационного эффекта и сокращение сроков репаративного остеогенеза на ранних этапах лечения искусственно созданных дефектов костной ткани с использованием нанокристаллического CeO₂. Проведенный анализ клинического исследования, данных электроодонтометрии, холодовой реакции, рентгенографии при лечении начального пульпита у пациентов показал: в сроки до 2-х недель после использования пломбировочного материала на основе Ca(OH)₂ с

нанокристаллическим CeO_2 при отсутствии болевых симптомов электровозбудимость пульпы восстанавливалась до нормы, на рентгенограмме зафиксировано интенсивное образование заместительного дентина в проекции патологического очага. При лечении деструктивных форм периодонтита по данным рентгенографии отмечено сокращение сроков регенерации костной ткани в присутствии пломбировочного материала на основе $\text{Ca}(\text{OH})_2$, модифицированного нанокристаллическим CeO_2 .

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (19-13-00416).

1. Радышевская Т.Н., Линченко И.В. Комплексное лечение деструктивных форм хронического периодонтита // Научный альманах, Тамбов, 2016, № 1-2 (15), с. 404-406.

2. Щербаков А.Б., Иванова О.С., Спивак Н.Я., Козик В.В., Иванов В.К. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2016, 474 с.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВНЕШНИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА РАЗДЕЛИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ ВОДНОЙ ДВУХФАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПЭГ-НАТРИЕВАЯ СОЛЬ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ-ВОДА

Influence of Various External Influences on the Separation Capacity of an Aqueous Two-phase Peg System-citric Acid Sodium Salt-water

Масимов Э.А., Шахбазова Г.М.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, shahbazova.gunel@mail.ru

Как известно [1] при смешивании растворов двух полимеров в общем растворителе (в частности в воде) при определенных условиях (в определенном интервале концентрации полимеров) происходит фазовое расслоение системы на две фазы различающимися относительными гидрофобностями. Следует отметить, что несовместимость может наблюдаться также и в смесях одного полимера с некоторыми неорганическими и органическими солями [2].

Систематические исследования Альбертсона большого количество водных двухфазных систем стали основой появления нового универсального высокоэффективного, легкого, экономически выгодного метода разделения и очистки самых различных биологических материалов [3]. Благодаря большому количеству воды в обеих фазах двухфазной системы (70÷80%), в такую систему можно вводит белки, нуклеиновые кислоты, вирусы, клетки и т.д. Эти биологические объекты в зависимости от их индивидуальных особенностей и от условий распределения (природа и концентрации фазообразующих полимеров, природа и концентрация добавок и т.п.) неравномерно распределяются по сосуществующим фазам двухфазной системы, не теряя при этом своих интактных свойств.

Для описания водных двухфазных полимерных систем принято [1] исследовать фазовую диаграмму-бинодальные кривые, где по осям координат отложены весовые концентрации фазообразующих компонентов, соединительная линия, её длина и угол наклона, разделительная способность и т.д. Характер фазовых диаграмм зависит от многих факторов: от природы полимеров, их молекулярно-массовых характеристик, температуры, присутствии низкомолекулярных добавок и т.п. [4].

В представленной работе были исследованы фазовые диаграммы водно-полимерной двухфазной системы ПЭГ – натриевая соль лимонной кислоты – вода в присутствии некоторых солей (нитрат натрия, карбонат натрия, сульфат натрия, хлорид калия, бром калия, йод калия, сульфат калия). Было показано, что влияние добавок проявляется в смешении бинодальных кривых, т.е. в изменении соотношения площадей гетерогенных и гомогенных областей фазовой диаграммы. Определены влияние добавленных солей на разделительную способность двухфазной системы (n^*), значения которых приведены в таблице 1. Для нахождения значений n^* -которая характеризует разницу в способностях среды фаз двухфазной системы участвовать в гидрофобных взаимодействиях с распределенными соединениями был использован метод описанной в [5]. Анализ приведенных данных показывает, что изменение параметров фазовой диаграмм и различные значения разделительной способности n^* двухфазной системы в зависимости от природы добавок связано изменением структуры воды под влиянием указанных солей и в соответствии с этим изменением взаимодействия фазообразующих компонентов двухфазной системы с водой, обуславливающие различия физико-химических свойств, в частности относительных гидрофобностей фаз двухфазной системы.

Таблица 1. Разделительная способность ПЭГ – натриевая соль лимонной кислоты – вода в присутствии некоторых солей

	n*
Вода	18,6
NaNO ₃ 4,67 моль/л	11,3
Na ₂ CO ₃ 3,76 моль/л	13,5
Na ₂ SO ₄ 1,79 моль/л	14,6
KCl 5,5 моль/л	7,19
KBr 3,53 моль/л	6,98
KJ	10,6
K ₂ SO ₄	14,35

1. Альбертсон П. Разделение клеточных частиц и макромолекул. М: Мир, 1974, 381 с.
2. Masimov E., Bagirov T., Zaslavsky B. Separation ability of aqueous polymer two-phase systems // Journal of Qafqas University, 2007, № 19, p. 26.
3. Albertson P.A. Particle fractionation in liquid two-phase systems // Biochim. Biophys. Acta, 1958, vol. 27, № 2, pp. 378-394.
4. Walter H., Brocks D.E. Fisher D. Partitioning in Aqueous two-phase systems. Orlando: Academic Press., 1985.
5. Zaslavsky B.Yu., Masimov E.A., Methods of Analysis of the relative Hydrophobicity of Biological Solutes // Topics Current Chemistry, 1988, vol. 146, pp. 171-202.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРФОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА И АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОХШИХ КАПЕЛЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Using Morphostructure Analysis and Atomic Emission Spectrometry of Dried Blood Plasma Droplets for the Diagnosis of Patients with Brain Tumors

Маслова Г.Т., Алексеенко Н.А., Коваленко М.Н., Титова А.В., Патапович М.П., Зажогин А.П.
Белорусский государственный университет, г. Минск, РБ, zajogin_an@mail.ru

Опухоли головного мозга встречаются практически в любом возрасте. Наибольшая доля заболевших приходится на возраст от 40 до 69 лет. Если средняя выживаемость больных с анапластическими астроцитами составляет около 24 мес., то ситуация у пациентов с глиобластомами значительно хуже. Так, по оценкам разных авторов средняя продолжительность жизни больных этой группы редко превышает 12 мес.

В настоящей работе анализируется содержание жизненно необходимых элементов (ЖНЭ), морфология и пространственное распределение (по объему капли) кальция при высыхании капель плазмы крови пациентов с опухолями головного мозга.

Образцы готовили по следующей методике. Каплю плазмы крови пациентов с опухолью головного мозга (ОГМ) объемом 10 мкл наносили на поверхность тщательно промытой подложки из ПММА, высушивали при температуре 20-25 °С и относительной влажности воздуха 60-65 % в течение примерно 90-100 минут. Диаметр высохшей капли – примерно 6 мм, средняя толщина – примерно 0,07 мм.

Для получения снимков высыхающих и высохших капель использовали оптический микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой, работающий с компьютером по USB-2 порту.

На всех полученных снимках картина структурирования, пусть в разной степени, но отличается от нормы (донор), что является признаком наличия патологии. Идентифицируются различные типы фаций, кроме радиального нормотипа. У 3 пациентов в фации обильно присутствуют морщины (складчатость), хаотично разбросанные широкие жгутовые трещины. Присутствуют трехлучевые трещины (маркер застойных явлений в организме), небольшие жгуты (признак гипоксии ГМ) и бляшки (интоксикация организма). У 4 пациентов с астроцитомой аномальное структурирование белка в значительной мере происходит в верхних слоях высыхающей капли плазмы крови. При этом на поверхности фации вытесняется NaCl, который кристаллизуясь, создает дендритную, похожую на листья, картину.

Наличие альбумина в крови в пределах физиологической нормы (45-55 % от общего белка) далеко не всегда отражает полноценность его транспортной функции. Его связывающие центры могут быть блокированы токсичными лигандами (при эндотоксемиях и печеночной недостаточности), в связи с чем ее транспортная емкость резко снижается. В связи с этим для клиницистов весьма важное значение имеет методика определения степени заблокированности центров связывания альбумина, его резервной связывающей способности и в соответствии с этим оценки транспортной функции.

В настоящей работе для оценки процессов резервной связывающей способности альбумина по кальцию изучено пространственное распределение кальция в высохших каплях плазмы крови пациентов с диагнозом опухоль головного мозга.

Оценку локального пространственного распределения макро- и микроэлементов в высушенных каплях плазмы крови экспериментально проводили с помощью лазерной многоканальной спектрометрии. При проведении исследований использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1.

Полученные данные показывают, что у больных с ОГМ концентрация кальция ниже, чем у здорового человека. Кроме того, в процессе высыхания капель происходит хаотичное образование центров коагуляции, наблюдается разброс концентрации кальция как по поверхности, так и слоям. Налицо – изменение связывающей способности альбумина при патологии. Это приводит к аномальной коагуляции белка и увеличению концентрации кальция по центру фации и в более глубоких слоях, что не характерно для здорового человека.

Общее содержание жизненно необходимых элементов (ЖНЭ) в плазме крови определяли методом атомно-эмиссионной спектрометрии на приборе ЭМАС 200Д. Анализ полученных результатов показал повышенное содержания алюминия, железа, кальция, цинка у всех пациентов как до, так и после оперативного вмешательства. Наблюдается небольшой недостаток магния. Качественно это может быть объяснено следующим образом. Экспериментальные исследования, показывают, что снижение Mg^{2+} в клетке ведет к истощению внутриклеточных запасов K^{+} и избыточному поступлению Na^{+} и Ca^{2+} интрацеллюлярно, вызывающее нарушение функции клеток, повышение тонуса сосудов, ослабление действия вазодилататоров и усиление действия вазоконстрикторов.

Настоящее исследование с использованием указанных методов показало, что анализируя поверхность высохшей капли БЖ по структурным проявлениям и изменению концентрации кальция по поверхности и слоям в совокупности оценкой общего содержания ЖНЭ можно дать более достоверную оценку патологических изменений в организме пациента, что может быть использовано как для поиска маркеров заболеваний, так и для контроля за ходом лечения.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛЫ ДНК С РАЗЛИЧНЫМИ АНТИСЕПТИКАМИ И БАКТЕРИЦИДНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

The Interaction of a DNA Molecule with the Various Antiseptics and Bactericidal Drugs

Мельников И.А.¹, Спиридонова А.А.², Морошкина Е.Б.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, evmorosh@mail.ru

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, РФ

Актуальность исследований влияния различных антисептических и бактерицидных препаратов на структуру молекулы ДНК обусловлена возникшей в последние 10-летия проблемой резистентности бактерий к антибиотикам. Молекула ДНК является одной из основных мишеней антибиотиков в бактериальных клетках. Использование антисептиков с различными механизмами действия и их комбинаций позволяет подавлять факторы реализации антибиотикоустойчивости микроорганизмов, в том числе нарушая горизонтальный перенос генетической информации между клетками бактерий путем разрушения плазмид. В частности, было показано, что антисептики и их комбинации способны предупреждать формирование и разрушать уже сформированную микробную биопленку [1]. Для понимания механизмов действия таких препаратов необходимы исследования модельных систем таких, как водные растворы ДНК.

Работа посвящена изучению кинетики воздействия известного антисептика гипохлорита натрия на ДНК в водно-солевых растворах в присутствии трех антимикробных препаратов с разным механизмом биологического действия (диоксидина, повидаргола и бетана). Предварительные исследования показали, что гипохлорит натрия наряду с денатурацией молекулы ДНК вызывает химическую модификацию азотистых оснований [2].

В связи с этим была поставлена задача выяснить, как влияет на эту способность гипохлорита присутствие бактерицидных препаратов другой природы с другим механизмом биологической активности. Было исследовано влияние перечисленных выше препаратов на временные и концентрационные зависимости изменений УФ спектров поглощения ДНК, вызванные воздействием гипохлорита. При этом было показано, что ни диоксидин, ни повидаргол, ни бетанин в условиях эксперимента не влияют на структуру ДНК. Однако присутствие этих соединений тем не менее оказывает различное влияние на эффективность действия гипохлорита. В то время, как повидаргол увеличивает скорость разрушения ДНК гипохлоритом, бетанин при определенной концентрации может полностью ингибировать его воздействие на ДНК. Диоксидин практически не влияет на воздействие гипохлорита на ДНК.

Полученные результаты позволяют сделать выводы о возможности использования комбинации исследованных препаратов на биологических объектах. Наиболее перспективным в этом отношении оказывается комбинация гипохлорита с повидарголом. Можно сделать предположение, что присутствие повидаргола облегчает процесс денатурации ДНК, инициируя хлорирование азотистых оснований ДНК гипохлоритом. Одновременное использование бетана с гипохлоритом, напротив нежелательно, так как при этом гипохлорит вступает в реакцию с бетаном быстрее, чем с ДНК, что приводит к взаимному ослаблению действия этих препаратов.

1. Tec V.V., Bobrov A.P. Antiseptics and DNase effect on the formation and viability of bacterial biofilms that formed on the tooth and brackets surface during orthodontic treatment // High Technologies in Medicine, 2008, pp. 28-31.

2. Osinnikova D.N., Moroshkina E.B., Mokronosova E.S. Effect of sodium hypochlorite on nucleic acids of different primary and secondary structures // J. Phys.: Conf. Ser., 2019, vol. 1400, 033001, DOI: 10.1088/1742-6596/1400/3/033001.

ТРИФЛУОПЕРАЗИН ПОДАВЛЯЕТ ЭФФЕКТ ГЛУТОКСИМА НА ТРАНСПОРТ Na^+ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

Trifluoperazine Attenuates the Effect of Glutoxim on Na^+ Transport in Frog Skin

Мельницкая А.В.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, avmelnitskaya@yandex.ru

² Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, РФ

Кожа амфибий и другие изолированные эпителиальные системы - классические модельные объекты для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны. Трансэпителиальный транспорт Na^+ представляет собой сложную, многокомпонентную систему, в работе которой принимают участие Na^+ -транспортирующие белки и сигнальные каскады, локализованные в различных мембранах клетки. Белковые компоненты этой системы могут являться мишенью для окислительного стресса. Ранее нами было обнаружено, что транспорт Na^+ в коже лягушки модулируется различными окисляющими и восстанавливающими агентами [1]. В цитируемой работе впервые было показано, что окисленный глутатион (GSSG) и иммуномодулятор препарат глутоксим® (динатриевая соль GSSG с нанодобавкой d-металла, “ФАРМА-ВМ”, Россия), приложенные к базолатеральной поверхности кожи лягушки, имитируют действие инсулина и стимулируют трансэпителиальный транспорт Na^+ . Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе регуляторного действия глутоксима на транспорт Na^+ , во многом еще не ясны.

Сигма-1 рецепторы представляют собой уникальные лигандрегулируемые молекулярные шапероны, широко экспрессированные в центральной нервной системе и в периферических тканях, в том числе в клетках почки и печени [2]. Сигма-1 рецепторы взаимодействуют с многочисленными белками-мишенями, включая ионные каналы и рецепторы, а также участвуют в модуляции многих клеточных процессов [3]. Ранее нами было показано, что лиганд рецепторов сигма-1 нейрорепептик трифлуоперазин (ТФП) подавляет транспорт Na^+ в коже лягушки [4]. В то же время известно, что некоторые клинические случаи требуют совместного применения иммуномодуляторов и нейрорепептиков. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать возможное участие рецепторов сигма-1 во влиянии глутоксима на транспорт Na^+ в эпителии кожи лягушки.

В экспериментах использовали лиганд рецепторов сигма-1 – нейрорепептик фенотиазинового ряда ТФП. Эксперименты проводили на самцах лягушки *Rana temporaria* в период с ноября по март. Кожу с брюшка лягушки срезали и помещали в камеру Уссинга («World Precision Instruments, Inc.», Германия) с диаметром внутреннего отверстия 12 мм. Для измерения электрических параметров кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала и регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ). В интервалах между измерениями ВАХ трансэпителиальный потенциал (V_T) кожи поддерживали при 0 мВ (режим короткого замыкания) или при потенциале открытой цепи V_{OC} ($V_{OC} = V_T$ при трансэпителиальном токе $I_T = 0$). Из ВАХ определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания I_{SC} ($I_{SC} = I_T$ при $V_T = 0$), V_{OC} и трансэпителиальную проводимость g_T . Транспорт Na^+ оценивали как амилоридчувствительный I_{SC} .

Показано, что глутоксим (100 мкг/мл), приложенный к базолатеральной поверхности кожи лягушки, подобно инсулину, стимулирует транспорт Na^+ . После приложения глутоксима, I_{SC} возрос на $39,24 \pm 7,35$ %; V_{OC} – на $50,12 \pm 9,04$ %; величина g_T не изменилась (здесь и далее по тексту $M \pm m$, n (число опытов) = 10). Обнаружено, что ТФП снижает стимулирующее влияние глутоксима на транспорт Na^+ . В среднем, после обработки апикальной или базолатеральной поверхности кожи ТФП (20 мкг/мл) в течение 30 мин перед приложением к базолатеральной поверхности кожи 100 мкг/мл глутоксима, I_{SC} уменьшается на $12,35 \pm 3,45$ или увеличивается на $6,36 \pm 2,12$ %, V_{OC} уменьшается на $30,03 \pm 8,12$ или увеличивается на $5,45 \pm 1,08$ %, а g_T увеличивается на $10,12 \pm 3,08$ % или не изменяется, при приложении ТФП со стороны апикальной или базолатеральной поверхности кожи, соответственно.

Таким образом, нами показано, что лиганд рецепторов сигма-1 ТФП подавляет влияние глутоксима на транспорт Na^+ , что свидетельствует об участии рецепторов сигма-1 в сигнальных каскадах, запускаемых глутоксимом в эпителии кожи лягушки, и приводящих к стимуляции транспорта Na^+ . Результаты указывают также на нежелательность совместного применения в клинической практике препарата глутоксим и производных фенотиазина.

1. Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Melnitskaya A.V., Antonov V.G., Nozdrachev A.D. Effect of disulfide containing compounds on Na^+ transport in frog skin // Dokl. Akad. Nauk, 2008, vol. 421, № 5, pp. 709-712.

2. Hellewell S.B., Bruce A., Feinstein G., Orringer J., Williams W., Bowen W.D. Rat liver and kidney contain high densities of sigma 1 and sigma 2 receptors: characterization by ligand binding and photoaffinity labeling // Eur. J. Pharmacol., 1994, vol. 268, pp. 9-18.
3. Su T.-P., Hayashi T., Maurice T., Buch S., Ruoho A.E. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator // Trends Pharmacol. Sci., 2010, vol. 31, pp. 557-566.
4. Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г. Трифлуоперазин модулирует транспорт Na^+ в коже лягушки // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2019, т. 4, № 1, с. 90-93.

СОЕДИНЕНИЕ YM-58483 ИНГИБИРУЕТ ДЕПОЗАВИСИМЫЙ ВХОД Ca^{2+} В МАКРОФАГАХ Compound YM-58483 Inhibits Store-dependent Ca^{2+} Entry in Macrophages

Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Антонов В.Г., Крутецкая Н.И.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, *l.milenina@spbu.ru*

Депозависимый вход Ca^{2+} , впервые описанный Джеймсом Патни более тридцати лет назад, является повсеместным механизмом регулируемого входа Ca^{2+} в клетки эукариот, активируемым при опустошении внутриклеточных Ca^{2+} -депо. Депозависимый вход Ca^{2+} участвует в регуляции широкого спектра клеточных процессов (экзоцитоз, экспрессия генов, рост и пролиферация клеток и др.) [1]. Основными компонентами мультимолекулярного белкового комплекса депозависимого входа Ca^{2+} являются Ca^{2+} -каналы Orai1 в плазмалемме и Ca^{2+} -сенсор STIM1 в мембране Ca^{2+} -депо [2]. При опустошении Ca^{2+} -депо, STIM1 олигомеризуется, транслоцируется в участки эндоплазматического ретикулума, расположенные у плазмалеммы, и прямо взаимодействует с белками Orai1, вызывая депозависимый вход Ca^{2+} . После обнаружения важной роли депозависимых Ca^{2+} -каналов в патогенезе тяжелых заболеваний человека, таких как тяжелый комбинированный иммунодефицит, назальный полипоз, ревматоидный артрит, эктодермальная дисплазия, тромбоз, острый панкреатит, аутоиммунные и аллергические заболевания [3] возрос интерес исследователей к разработке низкомолекулярных блокаторов депозависимых Ca^{2+} -каналов. Так, ранее было обнаружено, что производное пиразола YM-58483 эффективно ингибирует депозависимый вход Ca^{2+} и продукцию интерлейкина-2 в Т-клетках линии Jurkat человека [4].

Учитывая важную роль депозависимых Ca^{2+} -каналов в функционировании клеток иммунной системы и для выяснения фармакологических характеристик депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах, представлялось целесообразным исследовать влияние производного пиразола соединения YM-58483 на депозависимый вход Ca^{2+} , вызываемый ингибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз тапсигаргином и циклопiazониковой кислотой (ЦПК) в макрофагах. Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс популяции Wistar на автоматизированной установке для измерения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , $[\text{Ca}^{2+}]_i$, на базе флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B («Leica Microsystems», Германия). Для измерения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный зонд Fura-2AM («Sigma-Aldrich», США).

В контрольных экспериментах мы обнаружили, что добавление 0,5 мкМ тапсигаргина к макрофагам, находящимся в бескальциевой среде, вызывает увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$, отражающее мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо. В среднем увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ во время фазы мобилизации составило 60 ± 13 нМ ($n=7$). При последующем введении в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} наблюдался депозависимый вход Ca^{2+} в цитозоль. В среднем увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ во время входа Ca^{2+} составило 159 ± 22 нМ ($n=7$). Аналогичные результаты мы получили при использовании 10 мкМ ЦПК. В среднем увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ во время фазы мобилизации Ca^{2+} из депо, вызываемой ЦПК, составило 61 ± 14 нМ ($n=7$), а во время входа Ca^{2+} - 170 ± 20 нМ ($n=7$).

Мы впервые обнаружили, что при добавлении 5 мкМ YM-58483 на фоне развившегося депозависимого входа Ca^{2+} , вызываемого тапсигаргином или ЦПК, наблюдается практически полное подавление депозависимого входа Ca^{2+} . При добавлении YM-58483 на фоне входа Ca^{2+} , индуцированного тапсигаргином, подавление депозависимого входа Ca^{2+} составило $80,2 \pm 15,3$ % ($n=7$), а при добавлении YM-58483 на фоне входа Ca^{2+} , индуцированного ЦПК – $90,1 \pm 14,9$ % ($n=7$). Это свидетельствует о том, что YM-58483 эффективно подавляет уже развившийся депозависимый вход Ca^{2+} в макрофаги. Во втором варианте экспериментов мы исследовали влияние YM-58483 на уже активированные опустошением депо механизмы входа Ca^{2+} в макрофаги. Макрофаги стимулировали 10 мкМ ЦПК в номинально бескальциевой среде. После окончания фазы мобилизации Ca^{2+} из депо, вызванной ЦПК, клетки инкубировали в течение 5 мин в присутствии 5 мкМ YM-58483, после чего вводили 2 мМ Ca^{2+} в наружную среду. Обнаружено, что и в данных условиях YM-58483 вызывает значительное подавление входа Ca^{2+} (на $64,5 \pm 15,3$ %, $n=7$). Аналогичные результаты были получены с применением 0,5 мкМ тапсигаргина.

Таким образом, мы впервые на перитонеальных макрофагах крыс показали, что производное пиразола YM-58483 эффективно ингибирует депозависимый вход Ca^{2+} и является удобным фармакологическим инструментом для изучения депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах, как и в клетках других типов.

1. Putney J.W. Store-operated calcium entry: a historical overview // Adv. Exp. Med. Biol., 2017, vol. 981, pp. 205-214.

2. Prakriya M., Lewis R.S. Store-operated calcium channels // *Physiol. Rev.*, 2015, vol. 95, pp. 1383-1436.
3. Feske St. CRAC channels and disease – From human CRAC channelopathies and animal models to novel drugs // *Cell Calcium*, 2019, vol. 80, pp. 112-116.
4. Ishikawa J., Ohga K., Yoshino T., Takezawa R., Ichikawa A., Kubota H., Yamada T. A pyrazole derivative, YM-58483, potently inhibits store-operated sustained Ca^{2+} influx and IL-2 production in T lymphocytes // *J. Immunol.*, 2003, vol. 170, pp. 4441-4449.

МЕТОДЫ ОЧИСТКИ И СТУПЕНЧАТОЙ РЕНАТУРАЦИИ ГИБРИДНЫХ БЕЛКОВ НОВОГО ТИПА

Methods of Purification and Step by Step Renaturation of the New Type Hybrid Proteins

Миранда Чикурова Н.К., Михайлина А.О., Леконцева Н.В., Ильина Н.Б., Балобанов В.А.

ФГБУН Институт белка РАН, г. Пушкино, РФ, balobanov@phys.protres.ru

Создание новых белковых материалов в настоящее время является одним из актуальных направлений биоинженерии. Проектирование таких материалов опирается в первую очередь на физико-химические свойства белков и их комплексов. В нашей лаборатории создаются и исследуются новые типы олигомерных гибридных белков на термостабильной основе. Два метода выделения и ступенчатой ренатурации таких гибридных белков и представлены в данной работе.

Объекты, о которых пойдет речь, это гибриды, составленные из белков семейства Hfq как циклической олигомерной основы и пептидов, склонных к амилоидной агрегации. Такой состав предопределяет их высокую способность к агрегации. С другой стороны, большая разница в стабильности позволяет нам свернуть части по отдельности, комбинируя и чередуя денатурирующие воздействия.

На первом этапе очистки все клеточные белки разворачиваются гуанидингидрохлоридом в высокой концентрации при щелочном значении pH. В этих условиях наш целевой белок также полностью разворачивается и диссоциирует до мономеров. Далее следует металл-хелатная хроматография. В ходе этой хроматографии белки сначала очищаются, а затем, не снимаясь с колонки, переводятся в условия, позволяющие свернуться олигомерной основе, но не присоединенным пептидам. В случае А-бета пептида такими условиями могут быть либо высокое значение pH, либо присутствие высокой концентрации мочевины. Самоорганизация пептидов, пришитых к олигомеру была предметом наших дальнейших исследований. Эта ступень ренатурации в зависимости от метода инициировалась понижением pH либо удалением мочевины.

В ходе работы были разработаны методы подбора частично денатурирующих условий и методы контроля состояния целевых белков. Главным результатом стал сформированный подход к получению и исследованию такого класса гибридных белков.

БИОКОНЬЮГИРОВАНИЕ КОЛЛОИДНЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК СУЛЬФИДОВ КАДМИЯ И НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР БЕЛКА-ПОРИНА ИЗ БАКТЕРИЙ РОДА *YERSINIA*. ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА

Bio-conjugation of Colloidal Quantum Dots of Cadmium Sulphides and Supramolecular Structures of Protein-porin from Bacteria of the Genus *Yersinia*. Obtaining and Characteristic

Набережных Г.А.¹, Сергеев А.А.², Портнягина О.Ю.¹, Чистюлин Д.К.¹, Сидорин Е.В.¹, Новикова О.Д.¹

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, naber1953@mail.ru

² Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН

Флуоресцентные квантовые точки (КТ) на основе CdS являются перспективными материалами для оптики, оптоэлектроники, биологии и медицины. В последние годы наметился значительный прогресс в использовании наноматериалов для создания биосенсоров, в том числе с использованием белковых структур. Нативные или искусственно сконструированные биосенсоры с использованием ион-проводящих каналов являются весьма перспективным классом наноструктур.

В данной работе апробированы различные подходы для формирования упорядоченных надмолекулярных структур поринов иерсиний (*Yersinia pseudotuberculosis* и *Y. ruckeri*), меченных КТ: (1) конъюгирование пориновой матрицы с предварительно полученными стабилизированными КТ и (2) синтез КТ на предварительно сформированной на слюде пориновой матрице в поддерживающем липидном бислое. Размеры КТ и их конъюгатов с белками измеряли с помощью метода динамического рассеяния света (непосредственно в водной суспензии). Морфологию поверхности образцов исследовали методом атомно-силовой микроскопии. Для характеристики оптических свойств полученных конъюгатов была использована сканирующая флуоресцентная спектроскопия.

Обнаружено, что интенсивность люминесценции биоконъюгатов существенно зависит от способа приготовления КТ и образца белка (изолированный порин или комплекс порин-пептидогликан). Показано что в зависимости от типа образца в спектрах возбуждения люминесценции наблюдается существенный сдвиг края фундаментального поглощения КТ. Это указывает на формирование различных по диаметру КТ и, следовательно, на возможность управления их размерами в зависимости от структуры белковой матрицы. Полученные данные открывают перспективу использования наноструктур на основе бактериальных поринов, меченных КТ, в качестве биосенсоров.

ОЦЕНКА РЕОЛОГИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ В СРАВНЕНИИ С АНАЛОГИЧНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Evaluation of the Rheological Determinants of Human Blood with Iron-deficiency Anemia in Comparison with Similar Blood Parametrs of Healthy People

Нагорнова П.В., Белкин А.В., Дубровский В.Н., Елифанов А.В., Шалабодов А.Д.

Институт биологии, г. Тюмень, РФ, *a.v.belkin@utmn.ru*, *blatedrane@gmail.com*

Одним из важнейших показателей является способность эритроцитов к упругой деформации, которая позволяет им доставлять кислород по сосудистой системе капилляров, диаметр которых значительно меньше диаметра самих эритроцитов. Эта их способность и получила название деформабильность.

Показатель изменения деформабильности является одной из наиболее лабильных характеристик крови, а также она зависит от воздействия различных факторов и ряда патологий. В нашей работе данным фактором является железодефицитная анемия, которая характерна для 25% населения земного шара.

В работе исследована деформабильность эритроцитов пациентов с железодефицитной анемией методом лазерной дифрактометрии в сравнении с показателями крови здоровых людей. Также дополнительно проведена оценка различий в флуоресцеин-зависимой флуоресценции цельной крови больных ЖДА.

Показатель деформабильности объективно оценивается с помощью специального прибора - лазерного дифрактометра, в основе которого заложен принцип дифракции лучей гелий-неонового лазера на эритроцитах, выступающих в качестве взвешенных в вязкой среде рассеивателей. Далее видеосигнал выводится на монитор компьютера и программно анализируется в специально разработанной программе.

Всего было обследовано 60 человек обоего пола в возрасте от 20 до 65 лет (26 мужчин и 34 женщины) в период с апреля по май 2019 года. Из них 30 испытуемых были здоровыми, и 30 с железодефицитной анемией.

Исследование проводилось следующим образом: 100 мкл цельной крови помещались в 3 мл 20% раствора Ficoll-400. Далее эта суспензия помещалась при помощи катетера в зазор между вращающейся и неподвижной пластинами ($t=36,6^{\circ}\text{C}$). Изменяя скорость вращения нижней пластины мы на основании закона вязкого трения Ньютона, моделировали различные деформирующие условия, возникающие в зазоре между пластинами. Эритроциты под действием деформирующего воздействия вытягиваются, о чем можно судить, анализируя дифракционную картину, полученную при прохождении луча лазера через суспензию эритроцитов, взвешенных в вязкой среде.

Дифракционная картина отражает форму взвешенных в вязкой среде рассеивателей, а форма зависит от степени напряжения деформирующего воздействия.

Как показали результаты нашего исследования, у больных ЖДА деформабильность эритроцитов достоверно снижалась по сравнению с контрольными показателями, что свидетельствовало об изменении реологических свойств самого эритроцита.

Индекс деформабильности эритроцитов на максимальном усилии сдвига (порядка 15 Н/м^2) для пациентов с железодефицитной анемией (ЖДА) составляет $0,16 \pm 0,02$.

В норме индекс деформабильности эритроцитов на максимальном усилии сдвига для здоровых людей составляет $0,27 \pm 0,02$.

Способность эритроцитов противостоять такому воздействию, т.е. есть реологические свойства клеток, заложены в особенностях структурной организации мембраны. Снижение уровня деформабильности эритроцитов у пациентов в ЖДА является следствием снижения гематокрита.

Дополнительно мы измерили интенсивность свечения цельной крови в реакции флуоресцеин-зависимой флуоресценции. Диапазон излучения для больных ЖДА находился в пределах от 511 до 530 нм. Для здоровых людей был характерен диапазон от 573 нм до 585 нм.

Приведенные в работе методы могут способствовать более корректной оценке изменчивости реологических характеристик при различных патологиях, более оптимальному влиянию на формирование количественных характеристик реологических свойств и одновременно служить источником новых знаний о морфофункциональном состоянии эритрона.

1. Белкин А.В. Флуоресцентный спектральный анализ крови женщин с раком молочной железы и его

интеграция в реологические характеристики крови // Вестник Тюменского государственного университета, экология и природопользование, 2014, № 6, с. 108-113.

2. Белкин А.В. и др. Изменение реологических параметров крови в некоторых онкопатологиях. Национальная ассоциация ученых, 2015, № 9, с. 89-91.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Structural and Functional Modifications of Human Lymphocytes after Exposure to Silver Nanoparticles

Наквасина М.А., Колтаков И.А., Артюхов В.Г.

Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, nakvasina_ma@mail.ru

Одной из актуальных проблем бионанотехнологии и наномедицины является выявление перспектив применения наночастиц серебра (НЧС) в клинической практике и изучение их возможных токсикологических эффектов. К настоящему времени механизмы и последствия модифицирующего действия наночастиц серебра на лимфоцитарные клетки человека практически не изучены. В связи с этим нами исследованы структурно-функциональные модификации лимфоцитов периферической крови доноров после воздействия НЧС.

Коллоидный раствор серебра получали путем восстановления AgNO_3 гидроксиламином гидрохлоридом [1] с последующей обработкой в течение 5 мин на ультразвуковом гомогенизаторе Sonicators Q500 («Qsonica», США) при мощности 5 Вт и частоте 22 кГц. Размеры наночастиц серебра, определенные с помощью метода просвечивающей электронной микроскопии (микроскоп LIBRA 120 PLUS, «Carl Zeiss», Германия) на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета (ЦКП ВГУ), составили $2\div 12$ нм. Поверхностную архитектуру клеток исследовали методом электронной микроскопии на сканирующем растровом электронном микроскопе JSM-6380 LV («JEOL», Япония) на базе ЦКП ВГУ. В работе использовали также методы флуоресцентной микроскопии, флуоресценции, спектрофотометрии, электрофореза. К суспензии лимфоцитов ($2 \cdot 10^6$ кл/мл) в растворе Хенкса добавляли коллоидный раствор серебра в соотношении по объему 1:1, 1:0,1. Суспензии интактных и модифицированных лимфоцитов в растворе Хенкса инкубировали в микропробирках при 37°C в течение 1-3 ч в присутствии CO_2 .

Установлено, что воздействие НЧС на лимфоциты человека индуцирует снижение уровня жизнеспособности, изменения поверхностной архитектуры клеток (сглаживание поверхности), нарушения степени гидрофобности и зарядового состояния их плазматических мембран по сравнению с таковыми для интактных иммунных клеток. После инкубации лимфоцитов с НЧС наблюдалось незначительное снижение по отношению к контролю уровня РНК, оцениваемое по величине метаболического индекса. В тех же условиях было выявлено ингибирование активности лактатдегидрогеназы и глутатионредуктазы, что указывает на снижение интенсивности гликолитического процесса и функционирования глутатионзависимой антиоксидантной системы. Выявлено, что НЧС индуцируют повышение уровня активных форм кислорода в лимфоцитах и снижение уровня внутриклеточного кальция по сравнению с таковым для интактных клеток.

С помощью метода флуоресцентной микроскопии с использованием красителя SYBR GREEN I, связывающегося с двухцепочечной молекулой ДНК, исследованы изменения ядер лимфоцитов человека через 1 и 3 ч после воздействия наночастиц серебра. Обнаружено, что модификация лимфоцитов НЧС вызывает деформацию клеточных ядер, сопровождающуюся выбросом хроматина в среду и образованием внеклеточных ловушек, т.е. процесс этоза.

При исследовании методом гель-электрофореза изменений структурного состояния ДНК (выделенной из надосадочной жидкости и осадка лимфоцитов) до и после модификации НЧС в течение 2 ч не обнаружили на электрофореграммах дискретную «ДНК-лестницу» («апоптотическую лестницу») и сплошные пятна деградированной ДНК – доказательства реализации процессов апоптоза и некроза клеток соответственно. Наличие недеградированной ДНК в надосадочной жидкости после воздействия серебряных наночастиц на лимфоциты может указывать на реализацию процесса этоза.

Полученные нами данные указывают на возможность инициации процессов этоза лимфоцитов в условиях воздействия НЧС. Этоз сопровождается деконденсацией хроматина, распадом ядерной мембраны на везикулы, округлением и сокращением клеток, разрывом цитоплазматической мембраны с выходом содержимого клетки в среду, образованием пучков тонких филаментов (так называемых ловушек). Не исключено, что образование внеклеточных ловушек лимфоцитами после воздействия наночастиц серебра, обнаруженное нами в условиях *in vitro*, может реализоваться в организме и будет способствовать усилению антимикробных свойств исследуемых наночастиц. Однако гибель лимфоцитов и избыточное образование внеклеточных лимфоцитарных ловушек могут вызывать нарушение иммунного ответа, развитие воспалительных и аутоиммунных заболеваний, а также тромбообразование. Полученные результаты необходимо учитывать при обсуждении вопросов, касающихся изучения механизмов биологического действия серебряных наночастиц и их биомедицинского применения.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2020-2022 годы, проект № FZGU-2020-0044.

1. Нанобиотехнологии: практикум / под ред. А.Б. Рубина. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012, 384 с.

СИНТЕЗ КРАСИТЕЛЕЙ ЭРЛИХА НА ОСНОВЕ АЗОЛОПИРИМИДИНИЕВЫХ СОЛЕЙ И ИЗМЕНЕНИЕ ИХ СВОЙСТВ ПРИ РАСКРЫТИИ АЗОЛЬНОГО ФРАГМЕНТА БИЦИКЛА Synthesis of Ehrlich Dyes Based on Azolopyrimidinium Salts and Change of Their Properties upon Opening of Azole Fragment of the Bicyclic

Папонов Б.В.¹, Самохвалова М.С.¹, Якименко Д.Д.¹, Тилинин М.С.¹, Малышева И.А.¹, Ракитянский Д.А.¹, Тарасова Н.П.¹, Бучельников А.С.²

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ «БелГУ»), г. Белгород, РФ, paponov@bsu.edu.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

В контексте поиска новых эффективных люминесцентных красителей для клеток человека нами были исследованы соли 5-(4-(диметиламино)стирил)-7-метилазолопириимидиния 3a-d – красители Эрлиха, содержащие узловой кватернизованный атом азота в азолопириимидиновом фрагменте молекулы. Соединения 3a-d были синтезированы взаимодействием известных ранее солей азолопириимидиния 2a-d с 4-диметиламинобензальдегидом (4-DMAVA) (рис. 1).

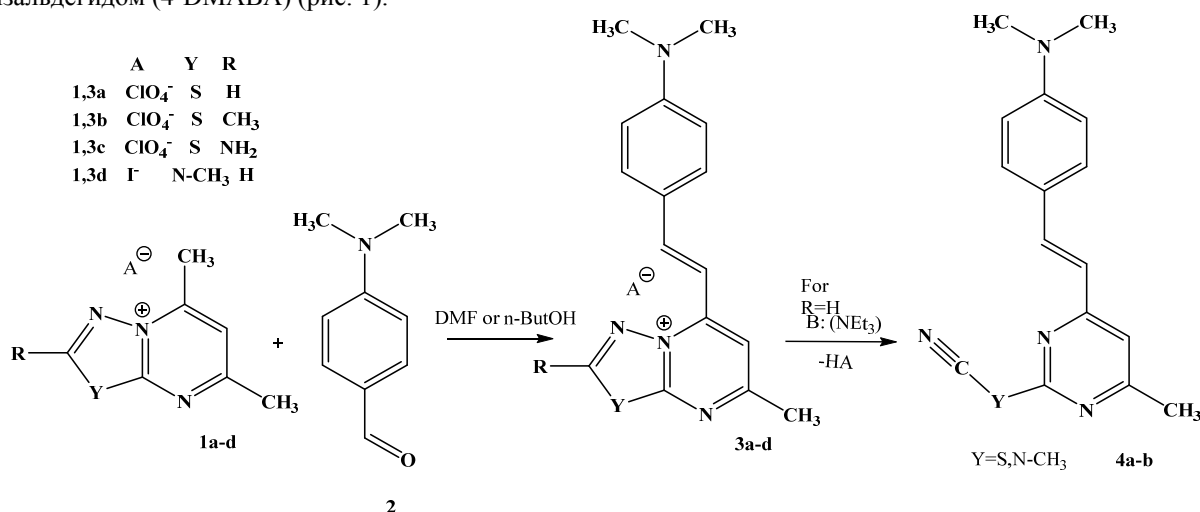


Рисунок 1. Общая схема синтеза флуоресцентных красителей на основе 5,7-диметилзамещенных солей азолопириимидиния

Синтезированные красители показали эффективную люминесценцию в красной области оптического спектра и способность к прототропным превращениям, сопровождающимся значительными изменениями в электронных спектрах поглощения и испускания.

Красители 3a и 3d, содержащие в положении 2 азолопириимидинового бицикла атом водорода, способны претерпевать раскрытие пятичленного цикла под действием оснований с образованием гетериланалогов замещенных стильбенов 4a,b, где в качестве гетероциклического фрагмента выступает пиримидиновое ядро. Такое расщепление N—N связи, содержащей кватернизованный атом азота, описано для азолопириимидиновых систем, содержащих как тиадиазольный [1], так и триазольный [2,3] фрагменты, и относится к эндо-раскрытиям [4]. Стильбены 4a,b обладают выраженной желто-зеленой флуоресценцией (497-511 см⁻¹).

Спектрофотометрические эксперименты титрованием показали, что один из представителей ряда рассматриваемых красителей образует межмолекулярные комплексы с молекулами кофеина и ДНК (на примере ДНК из молок лосося). Это открывает перспективу применения данного красителя в качестве тераностического средства, способного одновременно выполнять диагностическую и терапевтическую функции.

Самохвалова М.С. является победителем Всероссийского конкурса молодежных проектов по инновационному развитию бизнеса «УМНИК-Технокрat 2019».

1. Chuiguk V.A., Volovenko Yu.M Effect of bases on 1,3,4-thiadazolo[3,2-a] pyrimidinium salts // Chem. Heterocycl. Compd., 1974, vol. 10, № 12, pp. 1459-1460, DOI: 10.1007/BF00474329.

2. Hori M., Tanaka K., Kataoka T., Shimizu H., Imai E., Kimura K., Hashimoto Y. Generation of [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidine N-ylides and their ring transformation reactions // J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1985, pp. 2333-2336, DOI: 10.1039/P19850002333.

3. Paponov B. V., Shishkin O. V., Shishkina S. V., Kovach Yu. A., Kravchenko S. A., Doroshenko A. O. Hydrazine-1-carbonitriles: new synthesis approach to and reactions with carbonyl compounds // Monatsh. Chem., 2009, vol. 140, № 11, art. no. 1337, DOI: 10.1007/s00706-009-0184-9.

4. Maiboroda D.A., Babaev E.V. Ring cleavage reactions in the series of azoloazines with a bridging nitrogen atom (review) // Chem. Heterocycl. Compd., 1995, vol. 31, № 11, pp. 1251-1279, DOI: 10.1007/BF01168619.

ОЦЕНКА ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ В СУБЛИНГВАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ НА ФОНЕ ГИПОКСИИ ПРИ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ У ДЕТЕЙ

Evaluation of Microcirculation Features by Laser Doppler Flowmetry in the Sublingual Region Against the Background of Hypoxia in Children with Burn Disease

Перетягин П.В., Соловьева А.Г., Галова Е.А., Храпункова Г.Г.

Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород, РФ, *peretyaginpv@gmail.com*

Известно, что ожоговая болезнь является комплексным ответом организма на ожоговую травму, при большой распространенности которой летальность среди обожженных больных остается значительной. Также показано, что подъязычная область обладает анатомическими особенностями, позволяющими считать ее наиболее удобным участком при исследовании состояния микроциркуляции при различных состояниях. В связи с этим, целью данной работы явилось сравнение динамики уровня микроциркуляции сублингвальной, а также области предплечья у больных с термической травмой.

Исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.) базе Университетской клиники ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России в двух равных по численности группах ($n=20$) пациентов в возрасте от 1 до 18 лет обоего пола. В основную группу вошли 20 больных с термической травмой 1-2-3 степени на площади от 40% до 60% поверхности тела, находившихся на комплексном стационарном лечении в ожоговом отделении. Группу сравнения (контроль) составили 20 пациентов без термической травмы. Контрольными точками исследования ожоговых больных являлись 1-е, 7-е и крайние, перед выпиской, сутки. В группе сравнения диагностика проводилась однократно. Обследования осуществляли в утренние часы, в положении лежа на спине, продолжительностью 2 минуты, при температуре помещения не менее 20°C. Области для изучения явились подъязычная область, а также интактная кожа внутренней нижней трети предплечья. Для оценки динамики состояния микроциркуляции применяли метод лазерной доплеровской флоуметрии с применением анализатора «ЛАКК-М» (исп.2) (НПП «ЛАЗМА», Россия). Анализировали структуру регуляции микрогемоциркуляции: колебания в диапазонах активных (нейрогенный и миогенный) и пассивных (дыхательных и сердечных) факторов регуляции микрокровотока, а также рассчитывался показатель шунтирования. Результаты обрабатывали с помощью Statistica 6.0.

Показано, что у животных первой группы, которым в течение 30 суток внутрибрюшинно вводили, насыщенный кислородом, физиологический раствор, выявлено снижение объемного микрокровотока на 17% относительно стартовых значений (рис. 1).

Показано, что уровень показателя микроциркуляции в подъязычной области при поступлении был на 7,8 (± 4) перф.ед. выше контрольных значений ($p<0,05$). На 7-е сутки ПМ сохранялся на высоком уровне - на 6,6 ($\pm 3,8$) перф.ед. выше контроля, однако, к моменту выписки наблюдалось снижение, которое составило 8 ($\pm 2,5$) перф.ед. относительно контрольной группы ($p<0,05$). Значения данного параметра в области предплечья имели схожую динамику при поступлении (рис. 1).

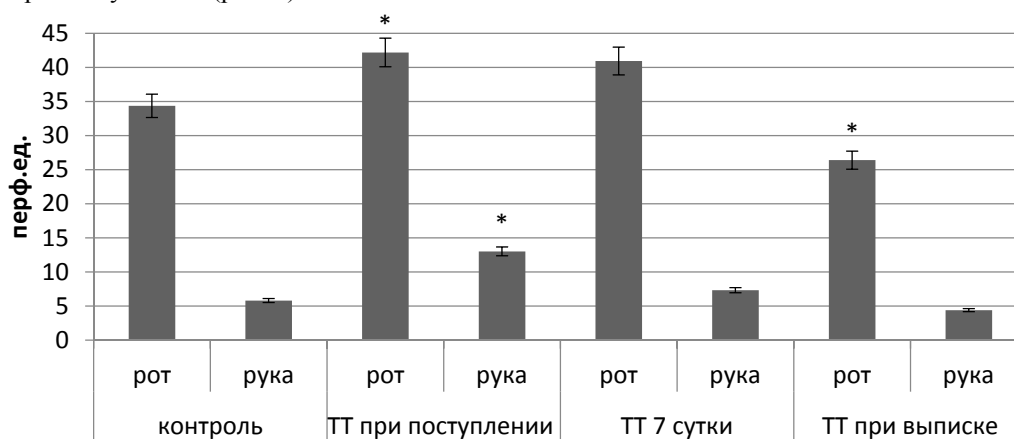


Рисунок 1. Уровень показателя микроциркуляции (ПМ) на предплечье и в подъязычной области
Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$)

Нами также отмечено, что происходит снижение общей перфузии ткани на этапах исследования сопоставлено изменениям миогенного и дыхательного компонентов, как в области предплечья, так и сублингвально. При этом в подъязычной области синхронно изменяется также и сердечный компонент. Таким образом, проведенное исследование показало, что подъязычная область является информативной и оптимальной для оценки состояния микроциркуляторного русла как локально, так и на системном уровне, что позволяет на ранних этапах развития ожоговой болезни выявить гипоксические нарушения.

**МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ КАЛИЕВОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ
МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ**
**Mechanisms of the Regulation of Ca^{2+} -Dependent Potassium Permeability of the Erythrocyte Membrane in
Metabolic Syndrome**

Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Буйко Е.Е., Алибаева Л.Ф., Смаглий Л.В., Гусакова С.В.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, РФ, *ivpetrova57@yandex.ru*

Одной из актуальных проблем современной медицинской и биологической науки являются нарушения со стороны системы кровообращения, которые развиваются при метаболическом синдроме (МС) и сопровождают артериальную гипертензию, сахарный диабет (СД) 2 типа [1]. При МС и СД 2 типа часто отмечаются изменения структурно-функционального статуса эритроцитов [2]. Важной проблемой является моделирование МС на животных, что позволяет воспроизвести феноменологию нарушений при развитии МС у человека.

В настоящем исследовании использовано 23 крысы-самца линии Wistar, которые были случайным образом разделены на контрольную и опытную группу (по 11 и 12 животных в каждой группе). Крысы контрольной группы содержались на стандартной диете. У крыс опытной группы формировали МС посредством содержания их в течение 12 недель на высокожировой и высокоуглеводной диете. Материалом для исследования служили осажденные эритроциты, которые получали путем центрифугирования (1000 g, 4⁰C) гепаринизированной крови животных, при этом плазму и клетки белой крови удаляли, а осадок эритроцитов трижды промывали 150 mM NaCl, содержащим 5 mM PBS. Для регистрации изменений мембранного потенциала (МП) эритроцитов использовали потенциометрический метод, основанный на том, что в присутствии протонифора СССР распределение протонов зависит от МП (E_m): $E_m = RT/F (pH_i - pH_o)$, где pH_i и pH_o – значения pH цитоплазмы и среды инкубации, соответственно.

Внесение в суспензию эритроцитов кальциевого ионофора A23187 (0,5 мкМ) либо электронно-донорной системы аскорбат (10 мМ) – фенозинметосульфат (ФМС, 0,1 мМ) приводило к развитию гиперполяризационного ответа (ГО), который в обоих случаях обусловлен открыванием Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов. Амплитуда ГО, стимулированного Ca^{2+} -ионофором A23187, снижалась у эритроцитов крыс с МС на 13% ($n=6$, $p<0,05$) по сравнению с данными, полученными у животных контрольной группы. В то же время в этих условиях не отмечалось изменения скорости развития ГО и скорости восстановления МП эритроцитов крыс обеих групп. Амплитуда ГО, полученного при добавлении к суспензии эритроцитов электронно-донорной системы аскорбат-ФМС, повышалась на 17% ($n=6$, $p<0,05$) у крыс с МС по сравнению с амплитудой ГО крыс контрольной группы. Также отмечалось повышение скорости восстановления МП эритроцитов крыс с МС, тогда как скорость развития гиперполяризации значимо не отличалась от параметров ГО эритроцитов крыс контрольной группы.

Полученные различия исследуемых параметров у крыс использованных групп, вероятно, связаны либо с конформационными нарушениями структурных белков Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов при МС, либо с нарушениями со стороны регуляторных белков, влияющих на Ca^{2+} -зависимую калиевую проницаемость эритроцитов, к которым, в частности, относятся компоненты электронно-транспортной цепи (НАДН-дегидрогеназа, цитохром с и др.), которые присутствуют в мембране эритроцитов [3].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Томской области в рамках научного проекта №19-415-703015, Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-143.2020.4).

1. Saklayen M.G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome // Curr. Hypertens. Rep. 2018, vol. 20, № 2, p. 12, DOI: 10.1007/s11906-018-0812-z.

2. Gyawali P., Richards R.S., Bwititi P.T., Nwose E.U. Association of abnormal erythrocyte morphology with oxidative stress and inflammation in metabolic syndrome // Blood Cells Mol. Dis., 2015, vol. 54, № 4, pp. 360-363, DOI: 10.1016/j.bcmd.2015.01.005.

3. Kennett E.C., Kuchel P.W. Redox Reactions and Electron Transfer Across the Red Cell Membrane // IUBMB Life, 2003, vol. 55, № 7, pp. 375-385.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ СУЛЬФИДА СЕРЕБРА
МЕТОДОМ БАКТЕРИАЛЬНОГО СИНТЕЗА**
Molecular Mechanisms of Silver Sulfide Nanoparticles Formation by Bacterial Synthesis

Пластун И.Л., Бокарев А.Н., Захаров А.А., Наумов А.А.

Саратовский государственный технический университет, г. Саратов, РФ, *inna_pls@mail.ru*

Интерес к получению и использованию наночастиц различного типа для самых разнообразных применений в биофизике, биотехнологии и медицине постоянно возрастает. В частности, большие перспективы в сфере

биофизики могут иметь наночастицы сульфида серебра, получаемые с помощью биосинтеза на основе грамположительных и грамотрицательных бактерий [1]. Получаемые частицы обладают высокой степенью биосовместимости за счёт белковой оболочки, а их малый размер позволяет их использовать в полупроводниковых технологиях в качестве квантовых точек, а также в биомедицине как флуоресцентные метки для прижизненной визуализации различных биопроцессов.

В работе исследуются механизмы межмолекулярного взаимодействия белковых структур с солями рабочего раствора, используемого для получения наночастиц сульфида серебра, а именно – с водными растворами солей AgNO_3 и $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. В качестве исследуемого белка рассматривается флагеллин, поскольку именно он доминирует в «белковой короне» наночастиц [1]. Флагеллин – это бактериальный белок, который способен самоорганизовываться в полые цилиндрические структуры. Он имеет в своем составе нестандартную аминокислоту метиллизин, которая «отвечает» за обволакивающие свойства. И именно метиллизин способствует образованию наночастиц. Таким образом, представляет интерес оценить механизмы и степень взаимодействия метиллизина с солями тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и нитрата серебра AgNO_3 на основе анализа образующихся водородных связей.

Ранее нами проводились подобные численные оценки для анализа степени межмолекулярного взаимодействия модифицированных нанодIAMONDOV с биомолекулами и лекарственными препаратами [2], где на основе рассмотрения фрагментов крупных молекулярных структур можно сделать вывод о степени комплексообразования. Хорошее совпадение с экспериментальными результатами дает возможность распространить данную методику и на другие задачи. Молекулярное моделирование и расчет спектров молекул и их комплексов проводились на основе метода теории функционала плотности (ТФП) с использованием функционала B3LYP и базисного набора 6-31G (d) при помощи программного комплекса Gaussian 09. В ходе вычислений были рассчитаны структура и ИК спектры молекул метиллизина и тиосульфата натрия, а также их молекулярного комплекса (рис. 1).

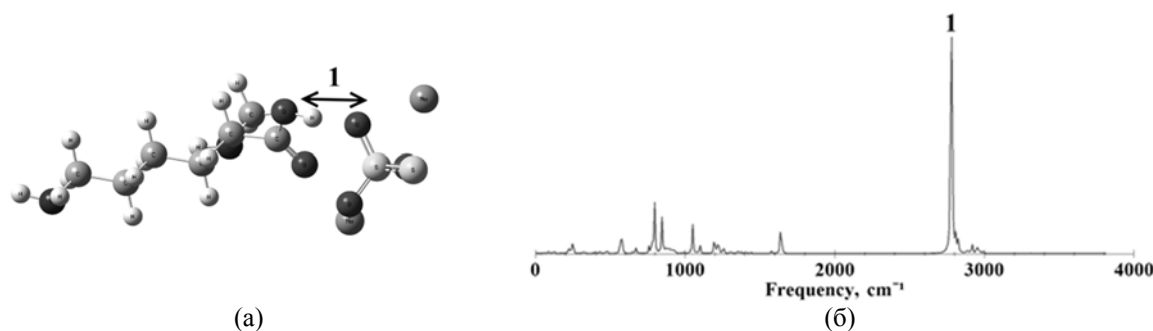


Рисунок 1. Структура (а) и ИК-спектр (б) молекулярного комплекса метиллизина и тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

В результате анализа ИК спектра образующегося молекулярного комплекса было обнаружено образование 1 водородной связи, частота валентных колебаний связи О-Н составляет 2782 cm^{-1} (рис. 1б). При образовании водородной связи наблюдается частотный сдвиг в длинноволновую область $\Delta\nu_1 = 750 \text{ cm}^{-1}$. Длина образовавшегося водородного мостика составляет $1.63 \text{ \AA}$, при этом энергия данной водородной связи составляет $7,993 \text{ ккал/моль}$, что соответствует средней водородной связи, приближающейся к сильной и говорит о высокой степени стабильности образующейся молекулярной структуры.

В ходе молекулярного моделирования было обнаружено, что метиллизин образует достаточно устойчивые молекулярные комплексы с тиосульфатом натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и нитратом серебра AgNO_3 , что даёт возможность говорить о его ведущей роли в образовании наночастиц сульфида серебра.

1. Воейкова Т.А., Шебанова А.С., Иванов Ю.Д. и др. Роль белков внешней мембраны бактерий *Shewanella oneidensis* MR-1 в образовании и стабилизации наночастицы сульфида серебра // Биотехнология, 2015, № 5, с. 41-48.

2. Plastun I.L., Bokarev A.N., Zakharov A.A., Naumov A.A. Supramolecular interaction of modified nanodiamonds, biomolecules and drugs: molecular modeling // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures, 2020, vol. 28, № 3, pp. 183-190, DOI: 10.1080/1536383X.2019.1686618.

NUTRITION ADDITIVE OF E322 AS PHOSPHATIDYLCHOLINE SOURCE FOR ENVELOPE IN NANOSCALE FORMULATION

Pogorelov A.G.¹, Stepanova T.A.¹, Pogorelova V.N.¹, Suvorov O.A.¹, Gulin A.A.²¹ Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino, Russia, agpogorelov@rambler.ru² N.N. Semenov Institute of Chemical Physics RAS, Moscow, Russia, aleksandr.gulin@phystech.edu

The most natural way of introducing biologically active molecules into the body is through the gastrointestinal tract. This approach is especially effective if it is necessary to directly deliver substances to the gastrointestinal epithelium [1]. This situation occurs during the treatment of a number of complications due to gastrointestinal upset. However, the effect of the drug can be significantly reduced by enzymes (peptidases, proteases, amylases, lipases, nucleases) and acidity (pH ~ 2–8). In order to maintain specific activity in an aggressive environment of the stomach and intestinal lumen, the introduced substances are converted into a colloid or suspension of nanoparticles [2].

Inorganic substances are considered as promising materials for creating the micro and nanocontainers [3]. Zeolite is one of the most abundant natural mineral, widely distributed throughout the world and used in food production and agricultural technologies [4]. The microporous structure significantly increases the surface area of zeolite particles available for adsorption. Among the naturally occurring Zeolites family, clinoptilolite is the most widespread and studied for biomedical purposes as the antioxidant [5] and anti-inflammatory agents [6], and excellent detoxifying [7]. A method has been developed to obtain synthetic zeolite nanoparticles in laboratory conditions [8]. Even though there are several synthetic species of zeolites, their production is limited by small volumes, the cost of final products and the need to purify it from the ingredients involved in the synthesis. An alternative to synthetic nanoparticles may be natural zeolite, which is mined on an industrial scale.

In the case of mucous epithelium, the affinity for the nanoparticle is with the mucous layer, which contributes to its adhesion on the surface of the layer and further diffusion to the apical membrane of enteric cells. The coating of particle with shell allows the biocompatibility of water-insoluble [9] or solid materials. For this purpose, the surface of nanoparticles can be modified with phospholipids [10] the main components of cellular membranes. The phospholipids shell also provides prolonged release of the active substance and protects it from the aggressive environment of gastrointestinal tract. Therefore, a structure of zeolite (core) and phospholipid (shell) is considered a promising composition for producing a nanopatform. An example of the successful use of aluminosilicate for the transport of biomolecules is a study in which a synthetic zeolite-L nanocrystal was employed as a container for the delivery of nucleic acids and organic molecules [24]. In this work, a poly-L-lysine coating allows the transport of the nanoparticle into the HeLa cell to be more efficient. To our knowledge, there are no reports of natural zeolite nanoparticles with phospholipids shell. In addition, there is no data on how a phospholipid will behave when interacting with negatively charged clinoptilolite nanoparticles. Thus, the aim of this work was to: (1) develop a method for producing nanoscale particles of natural clinoptilolite, (2) study the sorption of phosphatidylcholine by the particles obtained.

1. Simonoska-Crcarevska, M., Glavas-Dodov, M., Goracinova, K., Chitosan coated Ca–alginate microparticles loaded with budesonide for delivery to the inflamed colonic mucosa // *Eur. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008, vol. 68, pp. 565-578.

2. Allemann, E., Leroux, J.-C., Gurny, R., Polymeric nano- and microparticles for the oral delivery of peptides and peptidomimetics // *Advanced Drug Delivery Rev.*, 1998, vol. 34, pp. 171-189.

3. Kar, S., An Overview of Recent Advances in Application of Some Inorganic Materials-Biological and Technological Perspectives // *J. Biotechnol. Biomater.*, 2016, vol. 6, pp. 565-578.

4. Yada R.Y., Buck N., Canady R., DeMerlis C., Duncan T., Janer G., Juneja L., Lin M., McClements D.J., Noonan G., Oxley J., Sabliov Cr., Tsytsikova L., Vázquez-Campos S., Yourick J., Zhong Q., Thurmond S. Engineered Nanoscale Food Ingredients: Evaluation of Current Knowledge on Material Characteristics Relevant to Uptake from the Gastrointestinal Tract // *Food Science and Food Safety*, 2014, vol. 13, pp. 730-744.

5. Pellegrino P., Mallet B., Delliaux S., Jammes Y., Guieu R., Schaf O. Zeolites are effective ROS-scavengers *in vitro* // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, vol. 410, pp. 478-483.

6. Bacakova L., Vandrovcova M., Kopova I., Jirka I. Applications of zeolites in biotechnology and medicine – a review // *Biomater. Sci.*, 2018, vol. 6, pp. 974-989.

7. Selim M.M., El-Mekkawi D.M., Aboelenin R.M.M., Sohair A.S.A., Ghada M.M., Preparation and characterization of Na-A zeolite from aluminum scrub and commercial sodium silicate for the removal of Cd²⁺ from water // *J. Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 2017, vol. 24, pp. 19-25.

8. Mintova S., Grand J., Valtchev V., Nanosized zeolites: Quo Vadis?, *C.R. Chimie*, 2016, vol. 19, pp. 183-191.

9. Bertucci A., Lülfi H., Septiadi D., Manicardi A., Corradini R., De Cola L. Intracellular Delivery of Peptide Nucleic Acid and Organic Molecules Using Zeolite-L Nanocrystals // *Adv. Healthcare Mater.*, 2014, vol. 3, pp. 1812-1817.

10. Fricker G., Kromp T., Wendel A., Blume A., Zirkel J., Rebmann H., Setzer C., Quinkert R., Martin F., Müller-Goyman C. Phospholipids and Lipid-Based Formulations in Oral Drug Delivery // *Pharm. Res.*, 2010, vol. 27, pp. 1469-1486.

**ОЦЕНКА ДИНАМИКИ МЕТАБОЛИЗМА ЖНЭ В ОРГАНИЗМЕ ПАЦИЕНТОВ
С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЕТОДАМИ АТОМНО-
ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ОБРАЗЦОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ**
**Assessment of the Dynamics of VNE Metabolism in Patients with Brain Diseases using Atomic Emission
Spectrometry of Blood Plasma Samples**

**Прокопенко Т.А.¹, Нечипуренко Н.И.¹, Коваленко М.Н.², Пашковская И.Д.¹, Патапович М.П.²,
Зажогин А.П.²**

¹ Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
г. Минск, Беларусь, zajogin_an@mail.ru

² Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Ишемические повреждения головного мозга, главным образом, цереброваскулярная болезнь, расценивается в настоящее время как синдром острого и хронического повреждения мозга. Ввиду высокой распространённости ишемическая болезнь мозга представляет собой серьёзную медико-социально-экономическую проблему. Особенно актуальным является изучение возникновения артериальной аневризмы головного мозга, как основной причины развития геморрагического инсульта. Это обуславливает поиск патогенетически обоснованных методов лечения внутримозговых катастроф.

Возникновение дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ) всегда является результатом целого комплекса патофизиологических воздействий. Сюда относятся и нарушения функционально-морфологических свойств сосудов мозга, и дисрегуляция системной гемодинамики и гемостаза организма.

Установление взаимосвязи между состоянием организма и изменением содержания жизненно необходимых элементов (ЖНЭ) при патологии является требованием сегодняшнего дня современной медицины. В этой связи для визуализации динамики патологических процессов особое значение приобретает оценка не только общего и сиоиминутного, но, более всего, ретроспективного накопления и распределения ЖНЭ, в первую очередь – кальция, в организме человека. Это в значительной степени может помочь профилактике и диагностике болезни, и выработке эффективных мер лечения.

Целью данной работы является изучение возможности проведения методами атомно-эмиссионной спектроскопии мониторинга и оценки динамики изменения концентрации ЖНЭ в образцах плазмы крови пациентов с ДЭ. Полученные данные могут характеризовать степень отклонений концентрации ЖНЭ от нормы в процессе проведения лечения.

Общее содержание жизненно необходимых элементов (ЖНЭ) в плазме крови определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии на приборе ЭМАС 200Д. Анализ полученных результатов показал значительное повышение содержания алюминия, железа, кальция, цинка у всех пациентов как до, так и после оперативного вмешательства. Наблюдается небольшой недостаток магния. Качественно это может быть объяснено следующим образом.

Основным возбуждающим нейротрансмиттером центральной нервной системы (ЦНС) является глутамат. Он участвует в формировании высших когнитивных процессов. В больших концентрациях глутамат является нейротоксиком, результатом чего является гибель нейронов. В здоровой ткани мозга нейроны и клетки нейроглии поглощают «лишний» глутамат из межклеточного пространства. У клеток же ишемизированной области мозга для этого недостаточно энергии. Недостаточность обратного захвата глутамата способствует перевозбуждению рецепторов, регулирующих содержание K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Cl^- и других микроэлементов во вне- и внутриклеточном пространстве. Это обуславливает раскрытие контролируемых ими кальциевых каналов и приводит к дополнительному притоку ионов Ca^{2+} в нейроны и высвобождению внутриклеточного Ca^{2+} из депо.

В настоящей работе для оценки процессов связывающей способности альбумина изучено пространственное распределение кальция в высохших каплях плазмы крови пациентов с ДЭ.

Оценку локального пространственного распределения макро- и микроэлементов в высушенных каплях плазмы крови экспериментально проводили с помощью лазерной многоканальной спектроскопии. При проведении исследований использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1.

Полученные данные показывают, что у больных с ДЭ в процессе высыхания капель происходит хаотичное образование центров коагуляции, наблюдается разброс концентрации кальция как по поверхности, так и слоям. Налицо – изменение связывающей способности альбумина при патологии. Это приводит к аномальной коагуляции белка и увеличению концентрации кальция по центру фации и в более глубоких слоях, что не характерно для здорового человека.

Таким образом, анализ содержания химических элементов в плазме крови у пациентов с аневризмами позволил выявить особенности микроэлементных изменений в организме, что влечет за собой нарушения протекания многих биохимических и физиологических реакций при гипоксическом повреждении головного мозга. Установлено статистически значимое однонаправленное снижение суммарного уровня магния в плазме крови. Показано достоверное превышение нормальных значений суммарного содержания для алюминия, кальция, железа и цинка. Выявленные микроэлементозы могут влиять на особенности клинического течения заболевания и обосновывают целесообразность дополнения терапии медикаментозными комплексами для коррекции минерального обмена.

МЕТОД ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ КАК ИНСТРУМЕНТ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ МЕТАБОЛОМИКИ

The Method of NMR Spectroscopy as a Tool Dental Metabolomics

Прокопов А.А., Митронин А.В.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова»
Минздрава РФ, г. Москва, *pral@mail.ru*

Актуальность ранней диагностики заболеваний стимулирует развитие метаболомики (metabolomic, metabonomics) [1]. Новые возможности этого направления в медицине обусловлены современными аналитическими техниками, позволяющими получать информационно ёмкие характеристики разнообразных биологических объектов. В первую очередь речь идёт о спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) как экспериментальной основе метаболомики. В настоящее время за рубежом опубликованы результаты нескольких десятков исследований стоматологической направленности, из которых только некоторые носят фундаментальный характер [2]. Информацией о подобных работах в области стоматологии в нашей стране мы не располагаем.

Целью настоящего исследования была разработка подходов к метаболитическому профилированию слюны (ротовой жидкости) методом ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{19}F на основе сопоставления спектров слюны здорового человека и слюны пациентов с клиновидными дефектами твёрдых тканей зубов, имея ввиду возможное использование в дальнейшем метода ЯМР для ранней диагностики и контроля эффективности проводимого лечения.

Спектры ЯМР были записаны на спектрометре Bruker "AVANCE-300" на первом этапе по обычной методике (программа ZG), что позволило оценить интегральную интенсивность сигналов протонов молекул органической фазы слюны и обнаружить, что содержание органических соединений в ротовой жидкости больного оказалась почти в три раза меньше концентрации в контроле. Пул органических веществ, входящих в состав слюны, работает на её способность осуществлять свои функции: пищеварительную, минерализующую, защитную, регуляторную, экскреторную, буферную и т.д. Возможно предположить, что снижение содержания органического комплекса в слюне указывает на ослабление её защитных свойств, приводящее к интенсификации процессов деминерализации твёрдых тканей зуба.

Для увеличения разрешающей способности спектрометра применили импульсную методику накопления сигналов органики с предварительным насыщением сигнала воды (программа ZGPR). Как и ожидалось, методика повысила качество спектров ЯМР ^1H , что позволило зафиксировать повышенное содержание уксусной, пропионовой, масляной кислот, связанное, по-видимому, с усилением метаболизма глюкозы или активизацией метаболитической деятельности оральной микрофлоры.

Результаты спектроскопии на ядрах ^{13}C подтвердили сделанные выводы.

Ротовая жидкость, пересыщена фрагментами переменного по составу и сложно организованного гидроксиапатита, в том числе и фосфат-ионами, преимущественно в виде HPO_4^{2-} , хотя и не только. Это обстоятельство указывает на целесообразность использования ЯМР-спектроскопии на ядрах ^{31}P в интересах стоматологии. Спектры состоят из одного сигнала, но параметры сигналов слюны здорового и больного человека существенно различаются. Форма сигналов указывает на проявление анизотропии хим. сдвига, и, что важно, это проявление в контроле почти в 4 раза больше, чем в слюне больного человека. Очевидно, группы $(\text{PO}_4)_n$ слюны входят в состав структурированных жидких плёночных полимерных структур разной толщины, причём у контрольного образца толщина плёнок больше, чем у больного пациента. Уменьшение толщины биополимерной плёнки в составе слюны может происходить в соответствии с известным химическим механизмом полиэтиологичных кислотных атак. Предполагаем, что существующая в составе слюны плёнка может выполнять и защитную функцию, ослабляемую по мере разрушения этого фактора. Деструкция плёнки сопровождается образованием более мелких фрагментов, теряющих свойства частичной ориентации фосфатных групп, на что и указывает уменьшение анизотропии хим. сдвига в спектре ЯМР ^{31}P больного пациента.

Спектроскопия ротовой жидкости на ядрах ^{19}F для стоматологии также интересна, поскольку многие формы патологии связаны с деструкцией эмали, компонентом которой является фторапатит. Спектры ЯМР ^{19}F контрольного образца и образца ротовой жидкости больного пациента по структуре практически одинаковы и содержат единственный сигнал, причём концентрация фторида в слюне больного в 2,4 раза больше концентрации анионов в контроле. Особый интерес вызывает локализация резонансного сигнала ^{19}F в спектрах слюны: -77 м.д. отвечает группировке $-\text{CF}_3$. На основании имеющихся в литературе сведений [3] об обнаружении в составе слюны трифторуксусной кислоты как метаболита наркотического средства halothane мы предположили, что в исследуемых образцах слюны может находиться CF_3COOH , что и было подтверждено спектром свидетеля.

1. Methodologies for metabolomics: experimental strategies and techniques. Ed. by Lut N.W., Sweedler J., Wevers R. Cambridge; New York: Cambridge univ. press, 2013, 627 p.

2. Duchemann B., Triba M.N., Guez D., Rzeznik M., Savarin Ph., Nunes H., Valeyre D., Bernaudin J.-F., Le Moyec L. Nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of salivary metabolome in sarcoidosis // Sarcoidosis vasculitis and diffuse lung diseases, 2016, vol. 33, pp. 10-16.

3. Kawahara M., Akita S., Takeshita T., Fujii K., Morio M. Salivary excretion of trifluoroacetic acid (TFAA) after halothane anesthesia // Journal of Anesthesia, 1988, vol. 2, iss. 2, pp. 161-164.

ПРИРОДА ИЗМЕНЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ СИГНАЛОВ ЭПР Cu(2+)-СОДЕРЖАЩИХ КОМПЛЕКСОВ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА
The Nature of Changes in the Intensity of EPR Signals of Cu (2+)-Containing Complexes in the Blood of Patients with Parkinson's Disease

Рихирева Г.Т.¹, Маклецова М.Г.², Уразгильдеева Г.Р.³

¹ ФИЦ химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва, РФ *grikhireva@bk.ru*

² Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, РФ

³ Научный центр неврологии, г. Москва, РФ

Для нейродегенеративных заболеваний, несмотря на безусловное различие триггерных инициирующих событий, последующие механизмы, приводящие к гибели клеток, в основном имеют сходный характер. В качестве таких механизмов рассматривают митохондриальную дисфункцию, избыточное образование АФК, дефицит эндогенной антиоксидантной системы, эксайтотоксичность, апоптоз и др. Болезнь Паркинсона (БП) – возраст-зависимое неизлечимое хроническое заболевание, которое характеризуется потерей дофаминергических нейронов в черной субстанции мозга и аномальным накоплением железа. Особое внимание исследователей молекулярно-клеточных механизмов нейродегенеративных заболеваний уделяется оценке уровня окислительного стресса, который развивается при дисбалансе между патологическим избыточным образованием АФК и дефицитом антиоксидантных систем. Отсюда интерес к главной антиоксидантной системе сыворотки крови пациентов – системе белков церулоплазмин (ЦП 2+) / трансферрин (Тф 3+). Cu(2+)-ЦП, обладая феррооксидазной активностью, катализирует окисление Fe(2+) до Fe(3+), тем самым снижая содержание активных индукторов окислительного стресса, после чего Fe(3+) включается в Тф и переносится в клетки.

В 1984 г. Козлов с сотр. [1], исследуя модель экспериментальной гиперхолестеринемии с использованием метода ЭПР, предложили рассматривать регистрируемое при патологии увеличение сигнала ЭПР с g-фактором 2.05 как увеличение содержания ЦП(2+), а соответствующее увеличение отношения ЦП(2+) / Тф(3+) как свидетельство усиления антиоксидантной активности в сыворотке крови. Справедливо ли это всегда ?

Исследуя методом ЭПР отношение ЦП / Тф в крови пациентов с БП в зависимости от стадии заболевания (1-4 стадии по шкале Hoehn-Yahr) мы обнаружили увеличение этого показателя при переходе от 1 к 4 стадии заболевания от 119 до 186 % ($p \leq 0/001$) по сравнению с контролем [2]. Рост отношения ЦП(2+) / Тф(3+) был обусловлен увеличением амплитуды сигнала ЭПР с g-фактором 2.05, который обычно относят в сыворотке крови к активной форме ЦП. Однако в многочисленных исследованиях биохимическими и иммунохимическими методами было показано, что у пациентов с БП наблюдается падение феррооксидазной активности ЦП и часто снижается содержания белка по сравнению с клинической нормой [3]. При использовании метода ЭПР в изучении ЦП в сыворотке крови следует учесть, что наблюдаемое при патологии увеличение уровня Cu(2+)-содержащих парамагнитных центров однозначно не означает повышения содержания ЦП(2+) в крови, поскольку комплексы двухвалентной меди с низкомолекулярными лигандами также регистрируются в этой области спектра ЭПР. Увеличение амплитуды сигнала ЭПР с $g=2.05$ свидетельствует только об увеличении в плазме крови окисленных форм меди. Методом HPLC-ICP-MS у пациентов с БП было установлено значительное снижение содержания меди в ЦП и увеличение комплексов меди с низкомолекулярными лигандами [4]. Известно, что повреждающие эффекты меди осуществляются, когда этот металл присутствует в виде свободного иона или связан с низкомолекулярными лигандами [5].

Таким образом, учитывая выше сказанное, можно предположить, что установленное нами увеличение отношения «ЦП / Тф» на всех стадиях болезни отражает усиление окислительного стресса в результате снижения антиоксидантных свойств крови, связанного с переходом ионов меди из ЦП в комплексы с низкомолекулярными лигандами и является одним из патогенетических факторов БП.

1. Козлов А.В. и др. // БЭБМ, 1984, т. 98, с. 668-671.

2. Маклецова М.Г. и др. // Биофизика, 2017, т. 62, № 6, с. 1204-1207.

3. Kristinsson J. et al. // Neuropsych. Disease and Treatment., 2012, vol. 8, pp. 515-521.

4. Ajsuvakova O.P. et al. // J. Trase Elem Med Biol., 2019, vol. 28, p. 126423.

5. Montes S. et al. // Oxidat. Medicine and Cellular Longevity, 2014, 15 p.

**НОВАЯ ГРУППА ПЕПТИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ ШТАММОМ
STREPTOMYCES ROSEOFILAVUS INA-5812 И АКТИВНЫХ В ОТНОШЕНИИ
ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ: ПОДХОДЫ К СТРУКТУРЕ И
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АСПЕКТ**

A Novel Group of Peptide Antibiotics Synthesized by *Streptomyces roseoflavus* INA-5812 Strain and Active against Gram-positive bacteria: approaches to structure determination and functional aspect

Рогожин Е.А.^{1,2,3}, Васильченко А.С.³, Барашкова А.С.^{1,3}, Садыкова В.С.², Катруха Г.С.², Лапчинская О.А.²

¹ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, РФ, rea21@list.ru

² Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, г. Москва, РФ

³ Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (X-Bio), Тюменский государственный университет, г. Тюмень, РФ

В настоящее время актуальность поиска новых соединений, обладающих антибиотической активностью, приобретает крайнюю степень актуальности в виду все возрастающей резистентности микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний к применяемым действующим веществам антибиотиков. Один из подходов, направленных на решение данной проблемы, заключается в тотальном скрининге культур микроорганизмов (преимущественным образом, бактерий и актиномицетов) на наличие выраженного ингибирующего действия по отношению к коллекционным штаммам и клиническим изолятам тест-культур микроорганизмов, в частности, обладающих множественной лекарственной («multi-drug resistance», MDR) и абсолютной устойчивостью («extreme-drug resistance», XDR). Соответственно, на этом фоне значительно возрастает потребность в выявлении новых природных антибиотических соединений (как широкого, так и узкого спектра действия), эффективно преодолевающих такую резистентность, к числу которых относятся вещества пептидной природы, в том числе циклические.

В рамках настоящей работы из культуральной жидкости продуцента *S. roseoflavus* штамм INA-5812 был выделен антибиотический комплекс, состоящий, по данным аналитической обращено-фазовой ВЭЖХ, не менее чем из 15 различных компонентов. Основываясь на результатах спектрофотометрического анализа, можно предположить, что данные вещества представляют собой гомологи, поскольку имеют характерные максимумы поглощения при 210, 260 и 365 нм. Ранее для двух наиболее представленных по количеству соединений данного антибиотического комплекса (5812-1 и 5812-2) была проведена первичная структурная характеристика методами MALDI масс-спектрометрии, флуоресцентной спектроскопии и аминокислотного анализа. Было установлено, что выделенные молекулы имеют молекулярные массы менее 2000 Да, содержат в своем составе как протеиногенные, так и нестандартные аминокислоты, кроме того, была отмечена их способность к флуоресценции с максимумом эмиссии около 450 нм [1]. В дальнейшем было выявлено, что флуоресцентной аминокислотой в составе 5812 является 4-хлор-L-кениуренин [2].

Дальнейший функциональный анализ одного из компонентов комплекса выявил специфичность его антимикробного действия по отношению к ряду грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, MSSA и MRSA, *Bacillus* spp.), при этом оказался малоэффективен по отношению к видам рода *Enterococcus* spp., имеющими в своем геноме гены резистентности к ванкомицину, как и к грамотрицательным видам бактерий, а также и дрожжей (*Candida albicans*). Предположительно способ антибактериального действия данной группы соединений может быть схож с липопептидным антибиотиком даптомицином, который реализуется в интеграции в цитоплазматическую мембрану с последующей ее деполяризацией за счет изменения концентрации ионов кальция. Характерно, что в отличие от даптомицина, 5812 влияет на структуру сформировавшихся биопленок, которые представляют собой один из факторов устойчивости патогенных бактерий к антибиотикам.

Таким образом, дальнейшие структурно-функциональные исследования компонентов антибиотического комплекса INA-5812 могут позволить установить перспективность данных молекул как антимикробных соединений «последней надежды», применяемых при лечении тяжелых форм патологий (пневмония, сепсис и др.).

1. Лапчинская О.А., Катруха Г.С., Гладких Е.Г., Куляева В.В., Кудан П.В., Топольян А.П., Алфёрова В.А., Погожева В.В., Суконников М.А., Рогожин Е.А., Прохоренко И.А., Брылёв В.А., Королёв А.М., Слюндина М.С., Борисов Р.С., Серебрякова М.В., Шувалов М.В., Ксенофонтов А.Л., Стоянова Л.Г., Остерман И.А., Формановский А.А., Ташлицкий В.Н., Баратова Л.А., Тимофеева А.В., Тюрин А.П. Исследование антибиотического комплекса ИНА-5812 // Биоорганическая химия, т. 42, № 6, с. 732-740.

2. Alférova V.A., Shuvalov M.V., Suchkova T.A., Proskurin G.V., Aparin I.O., Rogozhin E.A., Novikov R.A., Solyev P.N., Chistov A.A., Ustinov A.V., Tyurin A.P., Korshun V.A. 4-Chloro-L-kynurenine as fluorescent amino acid in natural peptides // Amino Acids, 2018, vol. 50, pp. 1697-1705.

ВЛИЯНИЕ МИКРООКРУЖЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ОБЛУЧЕННЫХ ИМПУЛЬСНЫМ МАГНИТНЫМ ПОЛЕМ

Influence of Microenvironment on the Activity of Drugs Irradiated by a Pulsed Magnetic Field

Роденко Н.А., Васильева Т.И., Беляева И.А.

Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, г. Самара, РФ,
t.rodenco@mail.ru

В настоящее время проблема по выработыванию устойчивости бактерий к антибиотикам становится все актуальнее. Существуют разные варианты создания новых групп антибиотиков, но в современном мире есть возможность увеличить антибактериальную активность антибиотиков за счет влияния на них магнитного поля. В результате проведенных исследований были получены результаты по увеличению антибактериальной активности бензилпенициллина после воздействия на него импульсным магнитным полем (ИМП) [1-3].

Однако присутствие дополнительного микроокружения может внести изменения в результат воздействия импульсного магнитного поля на молекулы. Например, наличие целлюлозы может изменить движение молекул после воздействия на целлюлозные пленки с использованием облученного вещества [4]. Такой природный полимер как целлюлоза может применяться в комплексе с лекарственным препаратом.

Цель настоящего исследования – изучение влияния импульсного магнитного поля на активность бензилпенициллина с использованием целлюлозного носителя и без него.

В экспериментах использовались: бензилпенициллина натриевая соль (1000000ЕД) и диски бензилпенициллина (10ЕД), которые облучались импульсным магнитным полем с параметрами напряженности от $0,09 \cdot 10^6$ А/м до $0,82 \cdot 10^6$ А/м при количестве импульсов $n=1$, использовался одновитковый индуктор. После облучения ИМП порошкообразную соль бензилпенициллина разводили стерильной водой в 1000 раз.

Оценка антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли осуществлялась методом диффузии агар [5].

В качестве объекта исследования служила кишечная палочка *Escherichia coli*. *Escherichia coli* М 17 – штамм кишечной палочки получен из медицинского сертифицированного препарата «Колибактерин», предназначенного для лечения желудочно-кишечных расстройств у людей.

Таблица 1. Результаты экспериментов по влиянию импульсного магнитного поля на антибактериальную активность бензилпенициллина с целлюлозным носителем и без него

	Диаметр зоны лизиса (см)			
	контроль	опыт при $0,09 \cdot 10^6$ А/м	опыт при $0,50 \cdot 10^6$ А/м	опыт при $0,82 \cdot 10^6$ А/м
Облучение порошка бензилпенициллина натриевой соли	1,95±0,13	2,36±0,14	2,25±0,13	2,29±0,12
Облучение бумажных дисков, пропитанных бензилпенициллином	1,21±0,06	1,44±0,04	1,01±0,16	1,30±0,04

± – отличия диаметра зоны подавления роста *Escherichia coli* при воздействии бензилпенициллина, облученного ИМП, от контроля достоверны с уровнем значимости $P < 0,05$.

Выводы:

1) После облучения порошкообразной натриевой соли бензилпенициллина зафиксировано увеличение зон лизиса *Escherichia coli* на 21% при воздействии импульсного магнитного поля с напряженностью $0,09 \cdot 10^6$ А/м, на 15% – с напряженностью $0,50 \cdot 10^6$ А/м и на 17% – с напряженностью $0,82 \cdot 10^6$ А/м по сравнению с контрольным образцом.

2) После облучения дисков, пропитанных бензилпенициллином показано достоверное увеличение зон лизиса *Escherichia coli* на 19% только при воздействии импульсного магнитного поля с напряженностью $0,09 \cdot 10^6$ А/м по сравнению с контрольным образцом.

1. Васильева Т.И., Беляева И.А., Глушников В.А., Роденко Н.А. Магнитные эффекты антибактериального действия облученного бензилпенициллина натриевой соли // Известия Самарского научного центра РАН, 2018, т. 20, № 5 (2), с. 307-316.

2. Глушников В.А., Васильева Т.И., Пурыгин П.П., Беляева И.А., Роденко Н.А., Мадьярова А.К., Юсупов Р.Ю. Изменение антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли под воздействием импульсного магнитного поля высокой напряженности // Биофизика, 2019, т. 64, № 2, с. 296-306.

3. Роденко Н.А., Беляева И.А., Васильева Т.И. Исследование антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли под воздействием электромагнитного поля высокой напряженности.

Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века», 2019, № 1, с. 420-421.

4. Васильева Т.И., Шарова Т.В., Хренова А.А., Глушников В.А., Кленова Н.А. Влияние импульсных магнитных полей на сорбционные свойства бактериальных целлюлозных пленок // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2019, т. 4, № 1, с. 107-113.

5. Кленова Н.А. Лабораторный практикум по микробиологии: учеб. пособие. Самара: Самарский университет, 2012, 102 с.

ПОЛУЧЕНИЕ КОМПОЗИТА ИЗ НАНОВОЛОКОН ОКСИДА АЛЮМИНИЯ И НАНОАЛМАЗОВ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Production of Composite from Aluminum Oxide Nanofibers and Nanodiamonds and Study of Its Physical and Chemical Properties

Ронжин Н.О.¹, Посохина Е.Д.^{1,2}, Михлина Е.В.³, Симунин М.М.^{2,3}, Рыжков И.И.^{2,3}, Бондарь В.С.¹

¹ Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, roniol@mail.ru

² Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ

³ Институт вычислительного моделирования ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ

Наноалмазы детонационного синтеза являются перспективным наноматериалом в конструировании новых средств индикации и диагностики для биомедицинской аналитики. Широкий спектр химически активных групп и микропримесей металлов на поверхности наночастиц открывает возможности их использования в качестве самостоятельного сенсорного элемента и как носителя для иммобилизации биомаркеров при создании аналитических систем [1,2]. Следует отметить, что иммобилизация сенсорного элемента (наночастицы алмаза или комплекс наноалмазы-биомаркер(ы)) на/в твердой матрице будет способствовать адаптации конструируемых систем для их практического применения, особенно, при создании систем многоразового действия. Данное исследование состояло в получении композита из наноалмазов и нановолокон оксида алюминия и изучении его физико-химических свойств.

В работе использовали модифицированные наноалмазы (МНА) с высокой коллоидной стабильностью в водных суспензиях и средним размером кластеров 55 нм. МНА получали из коммерческих наноалмазов взрывного синтеза (ООО «Реал-Дзержинск, Россия) оригинальным способом [3]. Матрицей для фиксации МНА являлись нановолокна оксида алюминия (НВОА) диаметром 10–15 нм и длиной до нескольких микрометров (ANF Technology, Эстония).

Получение композита включало (рис. 1): предварительное диспергирование НВОА в воде ультразвуком, смешивание водных суспензий НВОА и МНА при весовом соотношении 5:1, инкубацию полученной смеси при постоянном перемешивании в течение 15 мин при 32 °С, вакуумную фильтрацию смеси через фильтр с диаметром пор 0.6 мкм для формирования из композита дисков диаметром 40 мм [4]. Для придания дискам структурной стабильности в водных растворах проводили их термообработку при 300 °С.

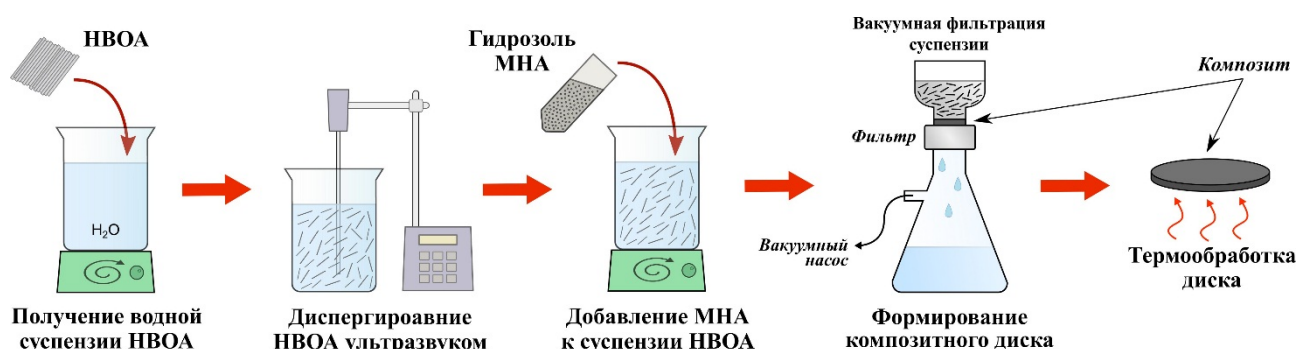


Рисунок 1. Стадии получения композита НВОА-МНА

Установлено, что при выбранных условиях эксперимента частицы МНА нацело и прочно связываются с НВОА. Взаимодействие НВОА и МНА, вероятно, происходит за счет разницы их дзета-потенциалов, обеспечивающей электростатическое притяжение наноматериалов. Методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии образцов выявлено, что поверхностный заряд МНА определяется наличием карбоксильных и кетонных групп, в то время как НВОА могут проявлять амфотерные свойства в реакции диссоциации гидроксида алюминия.

Данные сканирующей электронной микроскопии показали, что полученный композит имеет сетчатую структуру, в которой кластеры наноалмазов распределены по поверхности нановолокон оксида алюминия.

Установлено, что в составе композита МНА проявляют каталитическую функцию и обеспечивают образование цветного продукта в реакции соокисления фенола с 4-аминоантипирином в присутствии H_2O_2 . Показана применимость композита НВОА-МНА для многократного тестирования фенола в водной среде.

1. Ronzhin N., Baron A., Puzyr A., Baron I., Burov A., Bondar V. // Modern Clinical Medicine Research, 2018, vol. 2, № 7, DOI: 10.22606/mcmr.2018.22001.
2. Ronzhin N.O., Puzyr A.P., Bondar V.S. // Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2018, vol. 18, DOI: 10.1166/jnn.2018.15382
3. Puzyr A.P., Bondar V.S. RU Patent No. 2252192. 2005. Bull. No. 14.
4. Ronzhin N.O., Posokhina E.D., Mikhlin E.V., Simunin M.M., Nemtsev I.V., Ryzhkov I.I., Bondar V.S. // Doklady Chemistry, 2019, vol. 489, № 1, DOI: 10.1134/S001250081911003X.

К ВОПРОСУ О ХИРАЛЬНЫХ КОРРЕЛЯЦИЯХ В ФАРМАКОЛОГИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

On the Issue of Chiral Correlations in Pharmacology and Molecular Biology

Семенова Е.В., Малышко Е.В., Твердислов В.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, *k.semenova99@gmail.com*

Важной структурной особенностью многих биологических молекул и лекарственных веществ является хиральность – способность объекта не совпадать со своим зеркальным отражением при любых комбинациях перемещений и вращений в трёхмерном пространстве. Энантиомеры могут обладать одинаковыми физико-химическими свойствами (температурами кипения и плавления, плотностью и пр.), но отличаться по своей оптической активности, характеризуемой величиной и знаком вращения плоскости поляризации. Однако энантиомеры, в том числе лекарственных препаратов, могут проявлять совершенно разную химическую специфичность в процессах с участием хиральных соединений, так же, как и неодинаковую биологическую активность. Особенности взаимодействия энантиомеров с асимметричными соединениями организма важно учитывать при создании лекарственных препаратов, так как может оказаться, что одна форма лекарственного средства обладает терапевтическим эффектом, а другая не усваивается, является менее активной или даже вызывает серьезные осложнения, являясь для организма токсичной.

Среди используемых в настоящее время лекарственных средств больше половины составляют хиральные препараты, а, в свою очередь, большая часть этих хиральных лекарств представляет собой рацемат [1]. Более половины разрабатываемых за последние годы лекарств состоят из хиральных молекул. Хиральные препараты используют в лечении широкого спектра заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых и желудочно-кишечных. Получение оптически чистых форм вещества является сложной и дорогостоящей задачей, однако их использование во многих случаях могло бы уменьшить дозировку и количество побочных действий препарата.

Лечебная активность энантиомеров, их фармакокинетика и фармакодинамика интенсивно исследуются в настоящее время. Кроме отличий в метаболизме, скорости распространения и выведения, существует еще процесс хиральной инверсии оптических изомеров (взаимопревращение за время пребывания препарата в организме) в живых системах. Однако необходимо подчеркнуть, что физическая природа различий в терапевтическом воздействии энантиомеров до сих пор не установлена. Мы полагаем, что ключом к пониманию взаимодействия хирального лекарственного средства с хиральной мишенью может являться выявленная нами системная молекулярно-биологическая закономерность: прослеживается системная тенденция чередования знака хиральности структурных и функциональных уровней для ДНК, белков и цитоскелета клетки [2].

В развитие концепции о роли хиральности в структурообразовании биомакромолекул была проанализирована подборка лекарственных средств, выполнена их классификация по следующим критериям: по воздействию на организм, активному изомеру, типу лекарственного препарата и мишени воздействия.

Большая часть лекарственных средств (57 препаратов из 100) из нашей подборки – это лекарственные препараты с биоактивным «левым» S-/L-энантиомером. Терапевтическим эффектом у 28 лекарственных препаратов обладают «правые» R-/D-энантиомеры, у 15 лекарственных препаратов оба энантиомера обладают терапевтической эффективностью.

В представленной подборке хиральных лекарств «правые» R-/D-энантиомеры препаратов чаще являются неактивными или менее активными изомерами, и они же чаще встречаются среди вызывающих побочные действия энантиомеров. Лекарственные препараты с активными «левыми» S-/L-энантиомерами чаще являются анальгезирующими, антиангинальными и гипотензивными средствами.

Различия в фармакодинамических и фармакокинетических свойствах энантиомеров определяются их специфическими взаимодействиями с хиральными биомакромолекулами. Таким образом, в развитие разработанной ранее концепции знакопеременного хирального структурообразования в исходно гомохиральных биомакромолекулярных системах высказывается гипотеза о роли определенных хиральных соответствий между хиральными лекарственными препаратами и молекулами-мишенями.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-00082).

1. Nguyen L.A., He H., Pham-Huy C. Chiral drugs: an overview // International journal of biomedical science: IJBS, 2006, vol. 2 (2), pp. 85-100.

2. Tverdislov V.A., Malyshko E.V. On regularities of spontaneous formation of structural hierarchies in chiral systems of non-living and living nature // Phys. Uspekhi, 2019, vol. 189, pp. 375-385, DOI: 10.3367/UFNe.2018.08.038401.

РОЛЬ АТФ В ОБЪЕМ-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ КРЫСЫ

Role of ATP in Volume-dependent Regulation of Rat Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells Contractile Activity

Смаглий Л.В., Гусакова В.С., Гусакова С.В., Бирулина Ю.Г., Голованов Е.А., Чибисов Е.Е., Горянова А.М.

ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ, lud.smagly@yandex.ru

Легочная гипертензия (ЛГ) – это редкое, но прогрессирующее заболевание, характеризующееся усиленной пролиферацией клеток стенок легочных сосудов, вазоконстрикцией и тромбозом, что приводит к увеличению артериального давления в легочном русле свыше 25 мм.рт.ст [1], повышению периферического сосудистого сопротивления, развитию недостаточности правых отделов сердца и преждевременной гибели пациента. Пуриновые нуклеотиды (АТФ, УТФ и другие) регулируют тонус кровеносных сосудов через пуринаргические рецепторы на мембранах эндотелиальных и гладкомышечных клеток (ГМК) [2]. АТФ является основным медиатором пуринаргической сигнальной системы, который неселективно активирует P2X и P2Y рецепторы. Исследовали роль хлорного транспорта в АТФ-зависимой регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток легочной артерии. Исследование проводили на деэндотелизированных кольцевых сегментах легочной артерии (ЛА) крыс-самцов линии Wistar методом механографии. Сократительные ответы сегментов ЛА вызывали инкубацией в гиперкалиевом растворе (30 mM KCl), гипоосмотическом растворе (40 mM NaCl), а также восстановлением осмолярности среды (120 mM NaCl) после инкубации в гипоосмотической среде. Для исследования Cl⁻ транспорта использовали ингибитор Na⁺,K⁺,2Cl⁻ -котранспорта (NKCC) буметанид (10 мкМ, предобработка 30 минут), неселективный блокатор Cl⁻ каналов SITS (100 мкМ) и блокатор Ca²⁺-активируемых Cl⁻ каналов нифлумовую кислоту (НК, 10 мкМ).

При действии на базальный тонус сегментов легочной артерии крысы АТФ индуцирует развитие низкоамплитудных (в сравнении с сокращениями в ответ на гиперкалиевый раствор и фенилэфрин (ФЭ)) транзиторных сократительных реакций, амплитуда которых снижалась в присутствии ингибитора Na⁺,K⁺,2Cl⁻ -котранспорта (NKCC) буметанида. В сегментах, предсокращенных активацией α1-адренорецепторов фенилэфрином, АТФ (10-1000 мкМ) вызывал транзиторное увеличение механического напряжения, которое сменялось расслаблением. Ингибитор NKCC буметанид (100 мкМ), неселективный блокатор Cl⁻ каналов SITS (100 мкМ) и блокатор Ca²⁺ - активируемых Cl⁻ каналов нифлумовая кислота (10 мкМ) усиливали релаксирующее действие АТФ в сегментах легочной артерии. При этом буметанид, но не SITS, устранял констрикторную фазу АТФ-индуцированного ответа. Также впервые получены данные о влиянии АТФ на величину механическое напряжение сосудистых сегментов в неизоосмотических растворах: АТФ значительно пролонгировал гипоосмотическую стрикцию и устранял изоосмотическую стрикцию в ответ на смену гипоосмотического (40 mM NaCl) раствора на изоосмотический (120 mM NaCl), однако буметанид и SITS подавляли эти эффекты. Таким образом, действие АТФ в ГМК легочной артерии опосредовано активацией NKCC и выходящих Cl⁻ токов.

АТФ вызывает деполяризацию мембраны ГМК легочной артерии, инкубируемых в изотонической и гипотонической среде, при этом снижение осмолярности среды усиливало деполяризующее действие АТФ. В изотонической среде АТФ активирует транзиторный входящий ток, который сменяется осциллирующими входящими токами, продолжающимися в течение аппликации АТФ. Индуцируемый АТФ транзиторный входящий ток обусловлен катионами, тогда как осциллирующие токи обусловлены переносом Cl⁻ через Ca²⁺-активируемые Cl⁻ каналы и NKCC. Инкубация ГМК в гипотонической среде (40 mM NaCl) увеличивает амплитуду и длительность Cl⁻ токов, активируемых АТФ. Таким образом, констрикторное действие АТФ на гладкомышечные клетки легочной артерии связано с активацией трансмембранных механизмов перераспределения Cl⁻, в которые вовлечены NKCC и Ca²⁺-активируемые Cl⁻ каналы.

1. Barst RJ. Pulmonary hypertension: Past, present and future // Ann. Thorac. Med., 2008, vol. 3, № 1, pp. 1-4, DOI: 10.4103/1817-1737.37832.

2. Burnstock G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission // Physiol Rev., 2007, vol. 87, pp. 659-797, DOI: 10.1152/physrev.00043.2006.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛЁНОЧНОЙ ДОЗИМЕТРИИ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЛУБИННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОГЛОЩЕННОЙ ДОЗЫ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ КЛЕТОК НИЗКИМИ ДОЗАМИ ПРОТОНОВ

Film Dosimetry and Modeling of Depth Distribution of Absorbed Dose in Cells Irradiated with Low Doses of Protons

Смирнова О.Д., Лукьяшин В.Е., Латушкин С.Т., Семочкина Ю.П., Родина А.В.

НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, РФ, smirnova0ksana@yandex.ru

При лучевой терапии опухолей с использованием пучков протонов возможно облучение нормальных тканей пациентов в низких и умеренных дозах, что может приводить к развитию нежелательных отдалённых последствий. Для моделирования различных сценариев облучения клеток в пучке протонов в экспериментах на культурах клеток важно иметь возможность практического измерения поглощенных доз радиации в локальных точках исследуемого объекта малых размеров. Для этих задач целесообразно применение радиохромных плёнок и моделирование пространственного распределения средней кинетической энергии пучка протонов в исследуемых образцах.

В связи этим целью работы была разработка условий формирования заданной поглощенной дозы в культуре клеток при облучении протонами с использованием моделирования глубинного распределения поглощенной дозы протонов при облучении образцов и исследование зависимости выживаемости клеток от поглощенной дозы.

Облучение объектов протонами проводили на изохронном циклотроне У-150 с исходной кинетической энергией 32 МэВ. Облучение фантомов биологических мишеней в дозах от 0,1 до 1 Гр проводили в режимах «напролёт», с охватом пика Брэгга и в положении за пиком по ходу пучка. Для дозиметрического контроля до, внутри и после флаконов для клеток помещали пленку EBT-3 (GafChromic). Зависимость изменения оптической плотности пленки от поглощенной дозы получали при гамма-облучении пленки на установке ГУТ-200М (^{60}Co) для последующего определения поглощенной дозы протонов. Денситометрию пленок проводили при помощи спектрофотометра Shimadzu3600 UV-Vis-NIR при длине волны 638 нм. Глубинное распределение поглощенной дозы для протонов рассчитывали с использованием программы "SRIM-2013-Pro". Мезенхимальные стромальные стволовые клетки (МСК) из костного мозга мыши линии C57BL/6 выделяли и культивировали в среде DMEM/F12 с добавлением 10% фетальной сыворотки в стандартных условиях как описано ранее [1] и исследовали выживаемость клеток после облучения протонами в дозах 0,1-1 Гр. Для исследования клоногенной активности сразу после облучения клетки высаживали в шести-луночные платы в количестве 100 клеток/луночку для контрольных МСК. При облучении протонами количество клеток увеличивали до 200 клеток/луночку для доз 0,3 и 0,4 Гр и до 400 клеток/луночку для 0,6 Гр.

Для создания воспроизводимых условий облучения объектов в пучке протонов был создан мобильный стенд, позволяющий фиксировать образцы в канале облучения на точном расстоянии от выхода пучка, проводить теоретическое расчетное моделирование и прецизионную дозиметрию в заданных областях расположения образцов. Также были разработаны специальные «тормозители», крепящиеся к стенду, фиксируемому в определённом месте канала облучения, для осуществления одномоментного облучения клеточных культур в различных участках модифицированного пика Брэгга, - на восходящей ветви («напролёт»), непосредственно в пике Брэгга и на нисходящей ветви, после реализации пика. Стенд может быть использован для облучения клеток как в прикрепленном к пластиковой поверхности культурального флакона виде при работе с прикрепляющимися линиями клеток, так и в виде клеточной суспензии в цилиндрических флаконах объемом 0,2 см³. В последнем случае возможно использования тормозителей специальной формы, модифицирующие пик Брэгга, для получения равномерных значений по объёму флакона. В модельных экспериментах с помощью EBT-3-дозиметрии была проведена оценка получаемых экспериментальными объектами доз протонного излучения в разных точках расположения образцов. Облучение суспензии клеток проводили в соответствии с измеренными при помощи EBT-3 дозами. На основании модельных расчетов контролировали облучение образцов в пике Брэгга. Облучение МСК протонами в области низких доз в пике Брэгга приводило к снижению выживаемости и клоногенной активности МСК при всех исследованных дозах. Дозовые зависимости для этих показателей для МСК мыши при гамма-облучении клеток были описаны ранее [1,2]. Показано, что их снижение при облучении протонами было более глубоким, чем при γ -облучении клеток в эквивалентной дозе. Таким образом, протонное излучение с энергией 32 МэВ в области доз менее 1 Гр характеризуется значительно более высокой биологической эффективностью, чем гамма-излучение.

Работа выполнена при поддержке НИЦ «Курчатовский институт» (приказ №1363 от 25.06.2019 г.)

1. Москалева Е.Ю., Семочкина Ю.П., Родина А.В., Чукалова А.А., Посыпанова Г.А. Влияние облучения на мезенхимальные стволовые клетки костного и головного и мозга мыши и их способность индуцировать опухоли // Радиационная биология. Радиоэкология, 2017, т. 57, № 3, с. 245-256.

2. Семочкина Ю.П., Родина А.В., Москалева Е.Ю., Жорова Е.С., Сапрыкин В.П., Арзуманов С.С., Сафронов В.В. Злокачественная трансформация мезенхимальных стволовых клеток из разных тканей мыши после смешанного гамма-нейтронного облучения *in vitro* // Медицинская радиология и радиационная безопасность, 2019, т. 64, № 1, с. 5-14.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА КРОВИ ПРИ МИКРОВОЛНОВОЙ ТЕРАПИИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Features of Changes in the Oxidative and Energy Metabolism of Blood During Microwave Therapy of Thermal Trauma in the Experiment

Соловьева А.Г., Перетягин П.В., Мартынов И.А.

Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород, РФ, sannag5@mail.ru

Ожоги продолжают оставаться одним из распространенных видов бытового и производственного травматизма с высокой степенью летальности. Поэтому актуален поиск путей коррекции метаболических нарушений, развивающихся при термической травме. Целью работы было изучение особенностей окислительного и энергетического метаболизма крови при микроволновой терапии ожога в эксперименте.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 35 крысах-самцах линии Wistar массой 310–360 г., которых разделили на 7 равных групп: 1-я – интактные крысы (контроль 1), 2-я – животные с контактным термическим ожогом (КТО) на площади 20% п.т. ($T=100^{\circ}\text{C}$, 4 сек.) (контроль 2), который наносили под наркозом (Золетил+Ксила); крысам других опытных групп в течение 10 дней проводили курсовое 10-минутное воздействие электромагнитным излучением (ЭМИ) на зону затылочного бугра; 3-я – крысы с КТО, облучение которых проводили прибором «Амфит» с широкополосным диапазоном КВЧ-излучения 53–78 ГГц, 4-я – животные с КТО, воздействие на которых прибором «Амфит» начинали за 2-е суток до КТО и продолжали до 10-х суток, 5-я – крысы с КТО и облучением ЭМИ ТГц в дозе 0,12 мДж от экспериментального аппарата с диапазоном частот 130–170 ГГц (НИФТИННГУ, г. Н. Новгород), 6-я – животные с КТО с применением экспериментального генератора (ИФМРАН, Н.Новгород) с частотой излучения 150, 176 – 150, 664 ГГц, соответствующий МСИП оксида азота, 7-я – крысы с КТО, облучение которым не проводилось, однако прибор оказывал плацебо-эффект. Крыс выводили из эксперимента на 10 сутки после травмы путем декапитации под наркозом (Золетил+Ксила). Для оценки интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли уровень малонового диальдегида (МДА) в плазме и эритроцитах (Mihara M. et al., 1980). В эритроцитах определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) (Сирота Т.В., 2012), каталазы (Сибгатуллина Г.В. и др., 2011), лактатдегидрогеназы в прямой (ЛДГпр) и обратной реакции (ЛДГобр) (Кочетов Г.А., 1980), глутатионредуктазы (ГР) (Сибгатуллина Г.В. и др., 2011), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6-фДГ) (Кочетов Г.А., 1980). Результаты исследований обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0. Значимость различий между показателями определяли с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. У животных 2 контрольной группы выявлена активация ПОЛ в крови, где концентрация МДА выросла в эритроцитах на 20% ($p=0,006$), в плазме – на 11% ($p=0,03$), активность ЛДГпр и ЛДГобр снизилась на 39% ($p=0,04$) и 30% ($p=0,02$) соответственно по сравнению с интактными животными. При КТО по сравнению с контролем 1 зарегистрировано снижение удельной активности антиоксидантных ферментов: СОД – на 64 % ($p=0,02$), каталазы – на 42 % ($p=0,003$), ГР – на 31% ($p=0,005$), Гл-6-фДГ – на 28% ($p=0,04$), что свидетельствовало о развитии окислительного стресса при экспериментальном КТО. Снижение активности ЛДГ привело к лактацидозу и, как следствие, развитию гипоксии. ЭМИ в частотном диапазоне 150,179–150,664 ГГц вызвало снижение МДА в эритроцитах на 38% ($p=0,004$), в плазме крови на 17% ($p=0,03$) по сравнению с контролем 2. При этом отмечался рост удельной активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ эритроцитов на 95% ($p=0,001$), 63% ($p=0,004$), 30% ($p=0,02$), 32% ($p=0,005$) соответственно. Важно отметить, что при применении ЭМИ 150,179–150,664 ГГц эритроциты крови ожоговых крыс обладали повышенной перекисной резистентностью, что важно для их устойчивости против активных форм кислорода, образующихся на фоне термической травмы. ЭМИ от аппарата «Амфит» при КТО оказало антиоксидантный эффект, проявившийся в снижении ПОЛ в плазме и эритроцитах и повышении активности антиоксидантных ферментов. При этом по сравнению с показателями животных 2 контрольной группы концентрация МДА снизилась в плазме на 17% ($p=0,02$), в эритроцитах – на 20% ($p=0,02$), активность СОД возросла на 84% ($p=0,002$), каталазы – на 25% ($p=0,01$), ГР – на 11% ($p=0,04$), Гл-6-фДГ – на 19% ($p=0,005$). ЭМИ привело к активации энергетического метаболизма в эритроцитах, наиболее выраженное в частотном диапазоне 150,179–150,664 ГГц, способствуя утилизации молочной кислоты. Известно, что NO взаимодействует с SH-группами активного центра ферментов, повышая их активность. ЛДГ содержит в активном центре сульфгидрильные группы, определяющие активность фермента. Под воздействием ЭМИ активность ЛДГпр возросла в частотном диапазоне 130–170 ГГц на 27% ($p=0,02$), при 150,179–150,664 ГГц – на 34% ($p=0,002$), от аппарата «Амфит» – на 23% ($p=0,01$), активность ЛДГобр увеличилась в частотном диапазоне 130–170 ГГц на 22% ($p=0,03$), при 150,179–150,664 ГГц – на 29% ($p=0,004$), от аппарата «Амфит» – на 12%.

Таким образом, ЭМИ частотного диапазона 155,179–155,664 ГГц и 130–170 ГГц по сравнению с использованием ЭМИ от аппарата «Амфит» имело более выраженный антиоксидантный эффект, связанный с повышением активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ. ЭМИ на частоте NO оказало выраженный стимулирующий эффект на энергетический метаболизм эритроцитов, проявившийся в активации активности ЛДГ.

**ЭКСПРЕССИЯ ТРАНСПОРТНЫХ И ЦИТОЗОЛЬНЫХ БЕЛКОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ
МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В КЛЕТКАХ
МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO***
**Expression of Transport and Cytosol Proteins under Formation of Multidrug Resistance in Human Multiple
Myeloma Cells *in vitro***

Тамашевский А.В.¹, Гармаза Ю.М.¹, Пасюков В.В.², Слобожанина Е.И.¹

¹ ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь, tayzoe@mail.ru

² Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
г. Минск, Беларусь

Известно, что основным методом лечения онкогематологических заболеваний является интенсивная химиотерапия. Однако, несмотря на высокий процент ремиссий, количество пациентов-долгожителей оказывается не таким значительным. Кроме того, химиотерапия является причиной тяжёлых побочных эффектов, особенно у пожилых людей, а степень её эффективности сильно варьирует из-за феномена множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) – невосприимчивости клеток опухоли одновременно к целому ряду лекарственных средств с широким спектром механизмов воздействия на внутриклеточные мишени. Это явление связывают с функционированием АТФ-зависимых транспортеров суперсемейства ABC: Р-гликопротеина (Р-gr) и белка множественной лекарственной резистентности 1 (MRP1), которые снижают внутриклеточную концентрацию лекарственных соединений путем их выброса из клеток с использованием энергии гидролиза АТФ [1]. В последнее время также появились экспериментальные данные о тесной взаимосвязи между прогрессированием опухолей и содержанием низкомолекулярных клеточных тиолов металлотионеинов, одной из функций которых является связывание токсичных для клетки компонентов [2]. Цель работы – провести сравнительные исследования уровня экспрессии белков-транспортеров, ассоциированных с МЛУ (MRP1 и Р-gr) и низкомолекулярных клеточных тиолов металлотионеинов в лимфоцитах доноров, В-лимфобластоидной клеточной линии IM9 и ее сублинии, устойчивой к флударабелу – IM9-FII.

Материалы и методы исследования. Периферические мононуклеарные клетки были выделены из крови условно здоровых доноров в градиенте плотности гистопака. В-лимфобластоидную клеточную линию IM-9 (полученную от пациентки с множественной миеломой) и ее резистентную сублинию IM9-FII, устойчивую к флударабелу (белорусский аналог флударабина – антимаболита из группы нуклеозидных аналогов) культивировали в коммерческой среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и 2 mM L-глутамин при температуре 37°C в увлажненной атмосфере с 5%-ным содержанием CO₂. Моноклональные антитела UIC2-PE (Immunotech), MRP1-FITC (R&D) и UC1MT-IgG-FITC (Abcam) были использованы для оценки соответственно экспрессии белков Р-gr, MRP1 и металлотионеинов (MTs) I и II типов; анти-CD19-FITC (Beckman Coulter) – для фенотипирования CD19⁺ популяции лимфоцитов. Жизнеспособность клеток контролировали с использованием высоколипофильного красителя кальцеина-АМ и пропидиум йодида (Sigma), а также с помощью МТТ-теста. Все исследования были выполнены на проточном цитофлуориметре FACScanto II (Becton Dickinson).

Результаты и обсуждения. Продemonстрировано, что в В-лимфобластоидной клеточной линии IM9 интегральный мембранный транспортный белок Р-gr экспрессирован в большей степени по сравнению с MRP1, в то время как в лимфоцитах доноров их экспрессия равнозначна. При этом установлено, что в флударабел-резистентной сублинии IM9-FII возрастает роль белка MRP1, проявляющаяся в усилении степени его экспрессии по сравнению с родительской линией IM9, что связано, вероятнее всего, с накоплением в клетках IM9-FII метаболитов противоопухолевого препарата флударабела, выступающих в качестве субстратов для данного белка [3]. Выявлено, что снижение соотношения степени экспрессии основных белков, ассоциированных с явлением МЛУ (Р-gr к MRP1), в В-лимфобластной клеточной сублинии IM9, резистентной к флударабелу, относительно ее родительской линии IM9 происходит на фоне увеличения содержания в ней внутриклеточных цистеин-обогащенных низкомолекулярных белков металлотионеинов I и II типов.

Заключение. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что одним из механизмов, вносящих вклад в развитие феномена множественной лекарственной устойчивости IM9-FII клеток, наряду с усилением экспрессии транспортного белка MRP1, также выступает увеличение в них содержания цистеин-обогащенных металлопротеинов – MTs I/II типов, способных участвовать в процессах детоксикации от метаболитов данного лекарственного средства.

1. Wu C.P., Hsieh Ch.-H., Wu Y.-Sh. The emergence of drug transporter-mediated multidrug resistance to cancer chemotherapy // *Molecular Pharmaceutics*, 2011, vol. 8, № 6, pp. 1996-2011, DOI: 10.1021/mp200261n.
2. Dutsch-Wicherek M., Sikora J., Tomaszewska R. The possible biological role of metallothionein in apoptosis // *Frontiers in Bioscience*, 2008, № 13, pp. 4029-4038, DOI: 10.2741/2991.
3. Koczor C.A., Torres R.A., Lewis W. The role of transporters in the toxicity of nucleoside and nucleotide analogs // *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 2012, vol. 8, № 6, pp. 665-676, DOI: 10.1517/17425255.2012.680885.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ЙЕРБА МАТЕ (*Ilex paraguariensis*)

Antioxidant Properties of the Aqueous Extracts of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*)

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ,
teselkin-box@mail.ru

Роль оксидативного стресса в патогенезе многих заболеваний человека хорошо известна. В связи с этим важной задачей является разработка новых лекарственных препаратов с антиоксидантным действием.

Одним из растений, обладающих уникальными свойствами, является падуб парагвайский (*Ilex paraguariensis*), произрастающий в ряде стран Южной Америки, листья и стебли которого, обработанные по традиционной технологии для изготовления коммерческого продукта, получили название «йерба мате». Такое же название имеет соответствующий чайный напиток – йерба мате (мате). Установлено, что водные экстракты мате содержат большое количество биологически активных веществ, которые определяют широкий спектр биологической активности чая мате: гипохолестеринемические, гепатопротекторные, диуретические, противовоспалительные, антибактериальные, антидиабетические, антиоксидантные и другие свойства [1]. Полагают, что антиоксидантные свойства водных экстрактов мате обусловлены соединениями полифенольной природы, такими как кофеиновая кислота, моно- и дикофеилхиновые кислоты, рутин, кверцетин, кемпферол.

Цель исследования – изучить антиоксидантную способность (АОС) водных экстрактов мате и некоторых индивидуальных полифенольных компонентов мате *in vitro*, а также изменение АОС плазмы крови добровольцев после однократного употребления чая мате.

В качестве объекта исследования использовали мате торговой марки Amanda категории Desplada (La Cachuela S.A., Аргентина). Для приготовления водного извлечения из мате к навеске сырья добавляли бидистиллированную воду (из расчета 1 мг/мл), образец перемешивали и инкубировали в течение 30 мин на кипящей водяной бане. Затем образец выдерживали при комнатной температуре в течение 10 мин, охлаждали, восстанавливали общий объем бидистиллированной водой и фильтровали через бумажный фильтр. Сухой экстракт мате (лиофилизат водного извлечения из мате) готовили, как описано в работе [2].

АОС водных экстрактов мате (водного извлечения и сухого экстракта), а также полифенольных антиоксидантов (кверцетина, рутина, хлорогеновой и кофеиновой кислот) изучали с помощью двух модельных систем: 1) по восстановлению ими катион-радикалов диаммониевой соли 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (АБТС⁺⁺), которое оценивали спектрофотометрическим методом, измеряя оптическую плотность раствора при 734 нм; 2) по торможению окисления люминола, индуцированного 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлоридом (система АБАП-люминол), которое регистрировали методом кинетической хемилюминесценции. АОС водных экстрактов мате и полифенольных веществ представляли в виде тролокс-эквивалентов.

Обнаружено, что водное извлечение из мате и сухой экстракт мате дозозависимым образом обесцвечивали АБТС⁺⁺ и вызывали появление латентного периода хемилюминесценции люминола, индуцированной АБАП. АОС сухого экстракта мате в системе с АБТС⁺⁺ и в системе АБАП-люминол была в 1,7–1,8 раза выше по сравнению со значениями АОС водного извлечения ($p < 0,05$). Исследованные антиоксиданты в порядке уменьшения АОС в обеих модельных системах составили следующую последовательность: кверцетин, рутин, хлорогеновая кислота, кофеиновая кислота, тролокс.

Влияние чая мате на АОС плазмы крови было изучено с участием 8 практически здоровых добровольцев мужского пола в возрасте 34–50 лет, которые были разделены на две группы по 4 человека в каждой. Первая группа натошак принимала чайный напиток, приготовленный из 4 г мате, вторая – из 8 г мате. Определение АОС плазмы крови добровольцев проводили с помощью системы АБАП-люминол [3].

После однократного употребления напитка у добровольцев первой группы через 1 ч наблюдалась тенденция к повышению АОС плазмы крови по отношению ее исходному значению – прирост АОС составил 7,4%. У добровольцев второй группы через 1 ч АОС плазмы крови увеличилась на 14,5% ($p < 0,05$), через 2 ч увеличение составило 8,9% ($p < 0,05$).

Полученные результаты показывают, что водные извлечения из йерба мате могут использоваться для создания фитопрепаратов с антиоксидантным действием.

1. Heck C.I., de Mejia E.G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations // Journal of Food Science, 2007, vol. 72, № 9, pp. R138-R151, DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00535.x.

2. Kakorin P.A., Perova I.B., Rybakova E.D., Eller K.I., Ramenskaya G.V., Pavlova L.A., Teselkin Yu.O. Biologically active compounds in aqueous extracts of Caragana jubata (Pall.) Poir // Pharmaceutical Chemistry Journal, 2018, vol. 51, № 11, pp. 1014-1020, DOI: 10.1007/s11094-018-1731-7.

3. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Osipov A.N. A modified chemiluminescent method for determination of the antioxidant capacity of biological fluids and tissues // Biophysics, 2019, vol. 64, № 5, pp. 708-716, DOI: 10.1134/S0006350919050233.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СПОСОБНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Chemiluminescent Method for Determination of the Antioxidant Capacity of Biological Material

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ,
teselkin-box@mail.ru

Определение антиоксидантной способности (АОС) биологических объектов, например, биологических жидкостей, широко используется при проведении клинических и экспериментальных исследований, направленных на изучение механизмов развития оксидативного стресса и его роли в патогенезе заболеваний.

Известно много способов определения АОС биологических жидкостей. Большой популярностью пользуются хемилюминесцентные методы, основанные на взаимодействии антиоксидантов, входящих в состав биологических жидкостей, с радикалами-инициаторами, индуцирующими окисление хемилюминесцентных красителей. Один из них состоит в окислении люминола радикалами-инициаторами, образующимися при термическом распаде 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорида (АБАП) – используется модельная система АБАП-люминол. Однако не все варианты существующего метода приспособлены для определения АОС как биологических жидкостей, так и других биологических объектов, в частности тканей экспериментальных животных.

Цель исследования – разработка универсального метода определения АОС биологических жидкостей и тканей на основе системы АБАП-люминол, содержащей ЭДТА.

В исследовании использовали сыворотку крови и слезную жидкость 10 практически здоровых добровольцев мужского пола в возрасте 19–60 лет. Печень аутобредных белых крыс-самцов линии Wistar ($n = 10$) массой 200–220 г выделяли, промывали физиологическим раствором (4°C) и готовили 2% гомогенаты (масса/объем) с использованием физиологического раствора, содержащего 1 мМ ЭДТА. Далее образцы центрифугировали в течение 20 мин при 4000g и 4°C. Супернатанты отбирали для изучения АОС.

Измерение АОС биологических объектов проводили при температуре 37°C на 12-канальном хемилюминометре Lum-1200 (ООО «ДиСофт», Россия). Реакционная среда имела следующий состав: 10 мкМ люминола в 50 мМ трис-НСl-буфере, содержащем 0,14 М NaCl, pH 8,0. Окисление люминола индуцировали добавлением АБАП в конечной концентрации 1 мМ. Биологические жидкости, супернатанты гомогенатов печени, растворы антиоксидантов добавляли в реакционную среду после выхода кинетики свечения модельной системы на стационарный уровень и регистрировали латентный период хемилюминесценции, длительность которого прямо пропорциональна содержанию антиоксидантов в исследуемом образце. Как только антиоксиданты инактивируются, латентный период заканчивается и процесс окисления люминола возобновляется. В качестве стандартного антиоксиданта применяли тролокс.

Показано, что включение в состав системы АБАП-люминол дополнительного компонента – ЭДТА (1 мМ) придает последней ряд преимуществ. Заметно увеличивается (в 6–7 раз) интенсивность хемилюминесценции на стадии стационарного свечения, стационарность сохраняется в течение длительного времени (более 1 ч). Кроме того, не регистрируется значительного усиления интенсивности свечения в присутствии биологических жидкостей или отдельных антиоксидантов (сывороточного альбумина человека, аскорбиновой кислоты), наблюдаемого после окончания латентного периода хемилюминесценции в отсутствие ЭДТА. Величины латентных периодов, определяемые при введении в систему АБАП-люминол-ЭДТА некоторых низкомолекулярных антиоксидантов (тролокса, мочевои кислоты), а также биологических жидкостей человека существенно не отличаются от полученных в системе без ЭДТА. Это позволяет предположить, что ЭДТА не оказывает влияния на реакции окисления люминола.

Значения АОС сыворотки крови и слезной жидкости здоровых добровольцев, полученные с применением системы АБАП-люминол-ЭДТА и представленные в виде тролокс-эквивалентов, составили $439,6 \pm 9,4$ мкмоль/л и $73,1 \pm 2,5$ мкмоль/л соответственно, печени интактных крыс – $4,64 \pm 0,12$ мкмоль/г сырой ткани. В отдельном исследовании с использованием системы АБАП-люминол-ЭДТА нами установлено снижение АОС печени крыс с экспериментальным острым гепатитом, и нормализация этого показателя у крыс с гепатитом, получавших раствор лиофилизата водного извлечения из побегов караганы гривастой (*Caragana jubata* (Pall.) Poir.) [1].

Предлагаемый модифицированный метод определения АОС биологических объектов является универсальным и может использоваться в клинических и экспериментальных исследованиях [2].

1. Какорин П.А., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Раменская Г.В., Демур Т.А., Кулес В.Г. Гепатопротекторная активность водного извлечения из побегов *Caragana jubata* (PALL.) POIR. на модели острого гепатита, индуцированного ацетаминофеном у крыс // Биомедицинская химия, 2018, т. 64, № 3, с. 241–246, DOI: 10.18097/PBMC20186403241.

2. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Osipov A.N. A modified chemiluminescent method for determination of the antioxidant capacity of biological fluids and tissues // Biophysics, 2019, vol. 64, № 5, pp. 708–716, DOI: 10.1134/S0006350919050233.

СВЕРХЭКСПРЕССИЯ BDNF ПОДАВЛЯЕТ ПРИЗНАКИ ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ КОРЫ МОЗГА МЫШЕЙ С МУТАЦИЕЙ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА Sip1

BDNF Overexpression Suppresses the Symptoms of Epileptiform Activity of Cortical Neurons of Mice with a Mutation of the Transcription Factor Sip1

Туровская М.В.¹, Гавриш М.С.^{1,2}, Туровский Е.А.^{1,2}.

¹ Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН «ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ,

² Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, РФ,
m_turovskaya@mail.ru

Sip1 (*Zeb2*) – транскрипционный фактор, участвующий в регуляции нейрогенеза, который в большинстве случаев ведет к блокировке транскрипции. Мутации гена *Sip1* у человека ведут к различным патологиям, включая болезнь Хиршпрунга и синдром Моуат-Вильсона. Наиболее часто встречаемыми признаками синдрома Моуат-Вильсона являются пре- и постнатальная микроцефалия (идентифицирована в 97% случаев), эпилептические приступы (82% случаев), врожденные заболевания сердца (47%) и агенез мозолистого тела (35%). При этом умственная отсталость и черепно-лицевые нарушения присутствуют в 100% случаев данного синдрома. Эпилепсия, сопровождающая синдром Моуат-Вильсона, часто ассоциирована с нарушением баланса возбуждения и торможения в коре головного мозга, гиппокампе, полосатом и миндалевидном теле [6]. Нейроны коры мозга, полученные из гомозиготных мышей с мутацией *Sip1*, имеют сниженную чувствительность к активаторам AMPA- и NMDA-рецепторов *in vitro*, что может являться признаком сигнальной недостаточности. В тоже время нейроны коры гетерозиготных мутантов *Sip1* отличаются повышенной чувствительностью к активаторам возбуждающих рецепторов глутамата [1] и характеризуются повышенной сетевой активностью. При этом, гомозиготные мыши с мутацией *Sip1* редко доживают до возраста 1 месяц, а гетерозиготные особи достигают половой зрелости и дают потомство [2], несмотря на нейродегенеративные процессы в коре мозга. Таким образом, поиск способов ослабления генетически-детерминированных нарушений в нейрональных сетях является актуальной задачей нейробиологии и медицины.

В последние несколько лет появляются все больше работ, которые показывают важную роль нейротрофных факторов, в первую очередь нейротрофического фактора мозга (BDNF), в защите клеток мозга от различных повреждающих факторов. Нами были установлены внутриклеточные механизмы, отвечающие за нейропротекторные эффекты BDNF во время ишемии, эксайтотоксического действия глутамата и эпизодов гипоксии [3,4]. Целью данного исследования стало выявление возможности и механизмов устранения сигнальных нарушений в нейронах коры мозга гетерозиготных мышей с мутацией *Sip1* с помощью сверхэкспрессии BDNF.

Для селективной экспрессии BDNF в нейронах нами был создан аденоассоциированный конструктор, несущий последовательность BDNF (AAV-BDNF) и вызывающий его сверхэкспрессию уже в течение 3 дней *in vitro*. Сверхэкспрессия BDNF в нейронах гетерозиготных (*Sip1^{fl/fl}*) мышей приводит к снижению частоты и амплитуды Ca^{2+} -осцилляций в безмагнетиной модели эпилептиформной активности, что способствует снижению Ca^{2+} нагрузки на нейроны и защищает их от повреждения. На уровне экспрессии генов, кодирующих возбуждающие рецепторы глутамата, сверхэкспрессия BDNF приводит к увеличению уровня *Gria2* (субъединица *GluA2*) в 2,5 раза, что может способствовать снижению проводимости AMPA-рецепторов к ионам Ca^{2+} . Одновременно с этим происходит 1,5 – 2-кратное снижение уровня экспрессии генов *Grin2a*, *Grin2b*, *Gria1*, *Grik1* и *Grik2*, кодирующих субъединицы NMDA-, первую субъединицу AMPA- и субъединицы каинатного рецепторов, соответственно. Таким образом, сверхэкспрессия BDNF в нейронах с мутацией *Sip1* приводит к противоэпилептическому действию через изменение уровня экспрессии генов, кодирующих субъединицы возбуждающих рецепторов глутамата и подавление Ca^{2+} -осцилляций.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ – МК-677.2019.4, РФФИ – № 20-04-00053 и Программой повышения конкурентоспособности ННГУ им. Н.И. Лобачевского (Н-413-99_2020-2021).

1. Turovskaya M.V., Babaev A.A., Zinchenko V.P., Epifanova E.A., Borisova E.V., Tarabykin V.S., Turovsky E.A. *Sip-1* mutation causes a disturbance in activity of NMDA- and AMPA-, but not kainate receptors of neurons in cerebral cortex // *Neuroscience Letters*, 2017, vol. 650, pp. 180-186, DOI: 10.1016/j.neulet.2017.04.048.

2. Белоусова И.И., Жидкова Н.М., Борисова Е.В., Епифанова Е.А., Салина В.А., Тутукова С.А., Лапшин Р.Д., Бабаев А.А., Мухина И.В., Тарабыкин В.С. Фенотипические особенности поведения мышей с нокаутом по гену *Sip1* // *Современные технологии в медицине*, 2018, т. 10, № 2, DOI: 10.17691/stm2018.10.2.02.

3. Turovskaya M.V., Gaidin S.G., Vedunova M.V., Babaev A.A., Turovsky E.A. Turovskaya M.V., Gaidin S.G., Babaev A.A., Turovsky E.A. BDNF overexpression enhances the preconditioning effect of brief episodes of hypoxia, promoting survival of GABAergic neurons // *Neuroscience Bulletin*, 2020, DOI: 10.1007/s12264-020-00480-z.

4. Gaidin S.G., Turovskaya M.V., Gavriš M.S., Babaev A.A., Mal'tseva V.N., Blinova E.V., Turovsky E.A. The selective BDNF overexpression in neurons protects neuroglial networks against OGD and glutamate-induced excitotoxicity // *International Journal of Neuroscience*, 2020, vol 130, № 4, DOI: 10.1080/00207454.2019.1691205.

ОЖИРЕНИЕ ПОДАВЛЯЕТ Ca^{2+} -СИГНАЛЫ АДИПОЦИТОВ БЕЛОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ НА НОРАДРЕНАЛИН И АЦЕТИЛХОЛИН ЧЕРЕЗ СНИЖЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РИАНОДИНОВЫХ И IP_3 -РЕЦЕПТОРОВ

Obesity Suppresses the Ca^{2+} Signals of White Adipocytes on Norepinephrine and Acetylcholine Application through a Decrease of the Expression of Ryanodine and IP_3 -receptors

Туровский Е.А., Туровская М.В.

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН «ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пущино, РФ, turovsky.84@mail.ru

Ожирение является ключевым фактором развития неалкогольного стеатогепатита, диабета 2-го типа (Д2Т) и сердечно-сосудистых заболеваний, тем самым способствует высокой смертности населения [1-3]. Особую опасность ожирение представляет для детей и подростков. Развитие этих заболеваний при ожирении обусловлено «дислипидемией» – избытком циркуляции в крови жирных кислот. Гипертрофия и дисфункция белой жировой ткани несет в себе большой патогенный потенциал, ввиду невозможности эффективно устранять из крови свободные жирные кислоты белыми адипоцитами, а также по причине трансформации эндокринных и иммунных функций жировой ткани [3]. Изучение белой жировой ткани представляется сложной задачей по причине ее связи со многими метаболическими и сигнальными системами организма. Регуляция процессов липолиза и липогенеза, а также основные ауто- и паракринные механизмы регуляции жировой ткани слабо изучены.

С помощью методов флуоресцентной микроскопии, иммуноцитохимии и ингибиторного анализа нами установлено, что для белых адипоцитов мышей с индуцированным высококалорийной диетой ожирением характерна сниженная чувствительность к трансммитерам – норадреналину и ацетилхолину. При аппликации норадреналина к культивируемым белым адипоцитам происходит активация адренергических рецепторов и генерация кратковременных Ca^{2+} -сигналов, амплитуда которых зависит от концентрации агониста. В контроле (адипоциты, полученные из мышей, содержащихся на стандартной диете без признаков ожирения) происходит генерация Ca^{2+} -сигналов адипоцитами в ответ на добавление уже 100 нМ норадреналина, тогда как в адипоцитах из мышей с ожирением низкоамплитудные Ca^{2+} -сигналы регистрируются только при аппликации 3-8 мкМ норадреналина. Ацетилхолин в белых адипоцитах активирует M_3 -холинорецепторы и приводит к генерации кратковременных Ca^{2+} -сигналов или устойчивых Ca^{2+} -осцилляций [4]. В контрольных адипоцитах генерация Ca^{2+} -сигналов происходит при аппликации 10 нМ ацетилхолина, а в адипоцитах из мышей с ожирением похожие Ca^{2+} -сигналы наблюдаются при действии 100 нМ ацетилхолина. Таким образом, для белых адипоцитов, полученных из контрольных мышей, концентрация норадреналина, вызывающая полумаксимальный Ca^{2+} -сигнал (EC_{50}) составляет 873 ± 24 нМ, а для ацетилхолина – 139 ± 19 нМ. Ожирение приводит к появлению резистентности адипоцитов к данным активаторам и EC_{50} для норадреналина и ацетилхолина составляет $14 \pm 0,012$ мкМ и, $2,23 \pm 0,04$ мкМ, соответственно. С помощью окрашивания клеток антителами против рианодинового (RyR) и IP_3 -рецепторов (IP_3R), отвечающих за мобилизацию ионов Ca^{2+} из эндоплазматического ретикула адипоцитов при активации адренергических и холинергических рецепторов, нам удалось установить достоверное снижение уровня экспрессии этих рецепторов при ожирении. Так, в белых адипоцитах мышей с ожирением уровень экспрессии RyR снижается на $83 \pm 7\%$, а IP_3R на $65 \pm 11\%$ по сравнению с адипоцитами, полученными из контрольных мышей.

Таким образом, ожирение приводит к появлению резистентности белых адипоцитов к норадреналину и ацетилхолину, которая выражается в сниженных амплитудах Ca^{2+} -ответов и большими концентрациями агонистов, необходимых для генерации сигналов клетками. В механизм формирования данной резистентности вовлечено подавление функциональной экспрессии внутриклеточных рецепторов-каналов – RyR и IP_3R , отвечающих за мобилизацию ионов Ca^{2+} из эндоплазматического ретикула при активации адрено- и холинорецепторов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ – № 20-04-00053 и гранта Президента РФ – МК-677.2019.4.

1. Cinti S., Mitchell G., Barbatelli G., Murano I., Ceresi E., Faloia E., Wang S., Fortier M., Greenberg A.S., Obin M.S. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans // *Journal of Lipid Research*, 2005, vol. 46, № 11, pp. 2347-2355, DOI: 10.1194/jlr.M500294-JLR200.

2. Bays H.E., González-Campoy J.M., Bray G.A., Kitabchi A.E., Bergman D.A., Schorr A.B., Rodbard H.W., Henry R.R. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity // *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 2008, vol. 6, № 3, pp. 343-368, DOI: 10.1586/14779072.6.3.343.

3. Hajer G.R., van Haften T.W., Visseren F.L. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases // *European Heart Journal*, 2008, vol. 29, № 24, pp. 2959-2971, DOI: 10.1093/eurheartj/ehn387.

4. Turovsky E.A., Turovskaya M.V., Dolgacheva L.P., Zinchenko V.P., Dynnik V.V. Acetylcholine promotes Ca^{2+} and NO-oscillations in adipocytes implicating $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{cGMP} \rightarrow \text{cADP-ribose} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ positive feedback loop. Modulatory effects of norepinephrine and atrial natriuretic peptide // *Plos One*, 2013, vol. 8, № 5, pp. 1-18, DOI: 10.1371/journal.pone.0063483.

СТРУКТУРА КОМПОЗИТНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ФИБРИНА И РАМНОГАЛАКТУРОНАНА I

The Structure of Composite Hydrogels based on Fibrin and Rhamnogalacturonan I

Файзуллин Д.А., Валиуллина Ю.А., Зуев Ю.Ф.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, РФ, dfaizullin@mail.ru

Композитные гидрогели, используемые в качестве функциональных материалов, являются предметом многолетнего интереса исследователей, поскольку находят применение в области разработки средств доставки и в регенеративной медицине для замены и лечения тканей и органоклеточной терапии [1]. Композитные гидрогели на основе белков и полисахаридов обладают большим потенциалом благодаря дешевизне сырья, биосовместимости, малотоксичности. Использование заряженных полисахаридов упрощает технологию получения гидрогелей, но неблагоприятно сказывается на токсичности и стабильности в организме.

В работе исследована возможность получения композитных гидрогелей на основе слабозаряженного нежелирующего полисахарида рамногалактуронана (РГ) картофеля и гель-образующего белка фибриногена (Фб). Энзиматическая полимеризация Фб в смеси с Рг позволяет получить гидрогели различной жесткости в физиологических условиях путем вариации концентраций компонентов. Введение в структуру геля липидных везикул, инкапсулирующих фармакологически активное соединение или фермент, позволяет удерживать лекарство, размеры которого существенно меньше размеров пор геля. Методами кварцевых микровесов, динамического светорассеяния, ИК- и УФ-спектроскопии и сканирующей электронной микроскопии изучены кинетика полимеризации, вторичная структура компонент, вязкость и морфология гидрогелей. Введение РГ и/или липидных везикул уменьшает толщину нитей фибрина, увеличивает их число в единице объема и степень ветвления за счет эффектов исключенного объема, адсорбции Фб на РГ и липидных везикулах и модификации химических свойств молекулы Фб [2].

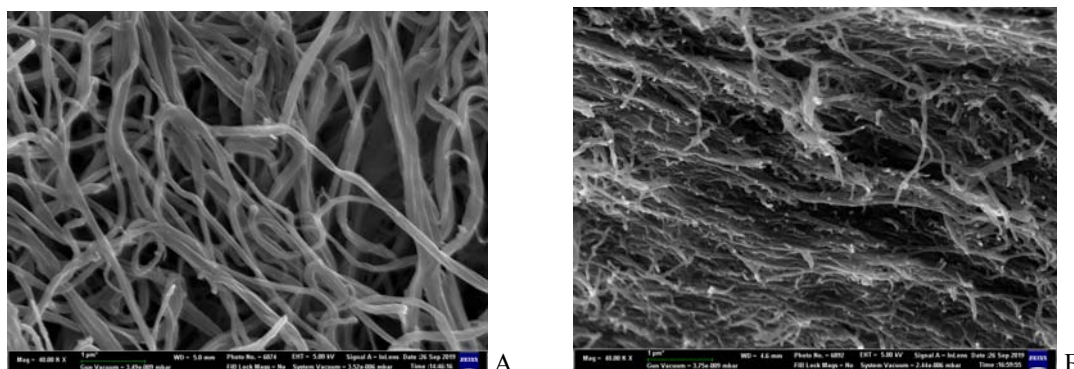


Рисунок 1. Морфология фибриновых гелей. А – контроль, чистый фибрин; Б – композит фибрин/рамногалактуронан. Сканирующая электронная микроскопия, увеличение 40К

Работа выполнена при финансовой поддержке совместного проекта РФФИ и Правительства Республики Татарстан № 18-415-160011

1. Chirani N., Yahia L'Hocine L.H. et al. History and Applications of Hydrogels // J. Biomed. Sci., 2015, vol. 4, p. 2, DOI: 10.4172/2254-609X.100013.
2. Faizullin D., Valiullina Yu., Salnikov V., Zuev Yu. Direct interaction of fibrinogen with lipid microparticles modulates clotting kinetics and clot structure // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2020, vol. 23, DOI: 10.1016/j.nano.2019.102098.

ИЗМЕНЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПЛЕНОК $\text{ZnO:SiO}_2\text{:Tb}^{3+}$ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДНК Alteration of the $\text{ZnO:SiO}_2\text{:Tb}^{3+}$ Films Luminescence under the Action of DNA

Хайруллина И.А.¹, Борулева Е.А.², Наговицын И.А.^{3,4}, Лобанов А.В.⁴, Чудинова Г.К.^{2,3}

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва, РФ, *spaldingtm@mail.ru*

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Москва, РФ, *katrinboruleva@gmail.com*

³ ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва, РФ, *langmuir@bk.ru*, *galkon@list.ru*

⁴ ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, *avlobanov@mail.ru*

В последнее время наблюдается значительный интерес к изучению ультрафиолетовой люминесценции (УФЛ) наноструктур и тонких пленок оксида цинка. Оптические свойства пленок зависят от состава материала, его структуры и влияния окружения. Взаимодействие с биомакромолекулами может привести к заметному изменению интенсивности УФЛ, что является основой для получения чувствительных поверхностей биосенсоров для качественного и количественного анализа.

Методика синтеза, на основе которой получены допированные ионами Tb^{3+} пленки ZnO:SiO_2 , приведена в работе [1]. Пленки оксида цинка, допированные Tb^{3+} (0,1-5,0 мол. %), были синтезированы золь-гель методом на стеклянных подложках. Оптические свойства исследовали с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5301pc и спектрофотометра Shimadzu UV-1800, определение структуры пленок проводили на сканирующем электронном микроскопе JSM 6510 LV + SSD X-MAX (JEOL) (Япония). Расчет величины оптической запрещенной зоны проводили в соответствии с работой [2]. Для нанесения на поверхность пленок ДНК (10^{-10} г/л) тимуса теленка (Sigma-Aldrich Co.) использовали центрифугу «Электрон» ЦЛМН-Р10-02, оснащенную разработанным в лаборатории держателем. Во всех случаях скорость вращения подложек составляла 2000 об/мин.

Коэффициент пропускания увеличивается при добавлении ионов Tb^{3+} в диапазоне 320-1000 нм. Так при длине волны 400 нм увеличение происходит в 1,4-2,1 раза. Во всех допированных пленках ширина оптической запрещенной зоны возрастает до 3,827 эВ по сравнению с недопированными пленками (3,34 эВ [1]). Максимум ультрафиолетовой фотолюминесценции (УФЛ) пленок $\text{ZnO:SiO}_2\text{:Tb}^{3+}$ располагается в области 362-366 нм ($\lambda_{\text{ex}} = 260$ and 330 nm), при этом интенсивность уменьшается на 12-46 % с ростом количества допанта. Нанесение ДНК на поверхность пленок $\text{ZnO:SiO}_2\text{:Tb}^{3+}$ приводит к тушению УФЛ на 3,8-6,6 %. Взаимодействие поверхности с ДНК приводит к батохромному смещению максимумов полос на 1 нм.

Допирование тербием пленок ZnO приводит также к появлению люминесценции в видимом диапазоне с наиболее интенсивной полосой при $\lambda_{\text{em}} = 545$ нм (возбуждение 330 нм), обусловленной f-f переходом между уровнями $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$ иона Tb^{3+} . Отметим, что при возбуждении светом с длиной волны 260 нм полосы в зеленой области спектра отсутствовали. Нанесение ДНК на поверхность пленки и изменение количества допанта изменяли положение максимума полосы в видимом диапазоне не более чем на 0,6 нм. Взаимодействие ДНК с поверхностью также приводит к тушению люминесценции и в зеленой области. Так, при содержании 1 и 3 мол. % Tb^{3+} интенсивность люминесценции падает на 4,3 и 3,5 %. В целом интенсивность люминесценции в видимом диапазоне при увеличении количества тербия в пленке возрастает в среднем на 6 % ($\lambda_{\text{em}} = 545$ -550 нм). Нанесение ДНК также приводит к тушению люминесценции пленок $\text{ZnO:SiO}_2\text{:Tb}^{3+}$ в видимом диапазоне, но не более чем на 3 %. Зависимость интенсивности зеленой люминесценции при увеличении количества Tb^{3+} нелинейна. С увеличением количества допанта до 3 мол. % наблюдали рост интенсивности при $\lambda_{\text{em}} = 546$ нм на 2,7-2,8 %; в пленках с 5 % содержанием Tb^{3+} наблюдали тушение на 15 % относительно пленок с 0,1 % содержанием Tb^{3+} .

Увеличение прозрачности пленок при допировании тербием выгодно для их использования в оптоэлектронных устройствах. Заметное изменение оптических характеристик под действием малых количеств ДНК может быть использовано для разработки чувствительных элементов биосенсоров, исследования механизмов взаимодействия биомакромолекул с поверхностями материалов, содержащих биологически активные элементы.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема 0082–2018–0006, регистрационный номер № АААА-А18-118020890097-1).

1. Boruleva E.A., Hayrullina I.A., Nagovitsyn I.A., Khoroshilov A.V., Sheshko T.F., Lobanov A.V., Chudinova G.K., Optical properties of Gd^{3+} -doped ZnO:SiO_2 thin films // *Laser Phys. Lett.*, 2019, vol. 16, № 8, p. 085901, DOI: 10.1088/1612-202X/ab1bd8.

2. Ouarez L., Chelouche A., Touam T., Mahiou R., Djouadi D., Potdevin A. Au-doped ZnO sol-gel thin films: An experimental investigation on physical and photoluminescence properties // *J. Luminesc.*, 2018, vol. 203, pp. 222-229, DOI: 10.1016/j.jlumin.2018.06.049.

ВЛИЯНИЕ ДНК НА ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЛЕНОК $\text{ZnO}:\text{SiO}_2:\text{La}^{3+}$ Effect of DNA on Optical Properties of $\text{ZnO}:\text{SiO}_2:\text{La}^{3+}$ Films

Хайруллина И.А.¹, Наговицын И.А.^{2,3}, Лобанов А.В.³, Чудинова Г.К.^{2,4}

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва, РФ, *spaldingtm@mail.ru*

² ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва, РФ, *langmuir@bk.ru*, *galkon@list.ru*

³ ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, *avlobanov@mail.ru*

⁴ Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Москва, РФ, *galkon@list.ru*

В последнее время проявляется интерес к изучению ультрафиолетовой люминесценции (УФЛ) наноструктур и тонких пленок оксида цинка. Механизмы возникновения УФЛ описаны, например, в работе [1]. Оптические свойства пленок зависят от состава материала, его структуры и влияния окружения. Взаимодействие с биомacroмолекулами может привести к заметному изменению интенсивности УФЛ, что является основой для получения чувствительных поверхностей биосенсоров для качественного и количественного анализа.

Золь-гель методом получены композитные пленки $\text{ZnO}-\text{SiO}_2$, допированные ионами La^{3+} (0,1-5,0 % mass.). Изучены спектры поглощения и люминесценции пленок и изменение спектральных характеристик под действием ДНК. Методика синтеза, на основе которой получены допированные ионами La^{3+} пленки $\text{ZnO}:\text{SiO}_2$, приведена в работе [2]. Оптические характеристики регистрировали с помощью спектрометров Shimadzu (RF-5301pc и Shimadzu UV-1800), определение структуры пленок проводили на сканирующем электронном микроскопе JSM 6510 LV + SSD X-MAX (JEOL) (Япония). Расчет величины оптической запрещенной зоны (E_g) проводили в соответствии с работой [4]. Для нанесения на поверхность пленок ДНК (тимус теленка, Sigma-Aldrich Co.) из растворов с концентрацией 10^{-8} - 10^{-10} г/л использовали центрифугу «Электрон» ЦЛМН-Р10-02, оснащенную разработанным в лаборатории держателем. Во всех случаях скорость вращения подложек составляла 2000 об/мин.

Допирование пленок $\text{ZnO}:\text{SiO}_2$ ионами La^{3+} приводит к увеличению коэффициента пропускания в УФ диапазоне ($\lambda = 357$ нм) с 4,5 % (для недопированных пленок) до 32-34 %, причем величина коэффициента пропускания обратно пропорциональна количеству допанта. Во всех допированных пленках ширина оптической запрещенной зоны возрастает по сравнению с недопированными пленками и составляет 3,830-3,853 эВ. Нанесение на поверхность ДНК слабо влияет на величину E_g .

Максимум полосы УФЛ в пленках $\text{ZnO}:\text{SiO}_2:\text{La}^{3+}$ незначительно смещается в зависимости от количества допанта и располагается при $\lambda_{em} = 363$ -367 нм. Используемая нами методика позволяет получать пленки с воспроизводимыми параметрами. Среднее стандартное отклонение (серии из пяти однотипных образцов для разных количеств La^{3+}) составляет для положения полосы УФЛ 0,1 - 0,2 %, для интенсивности УФЛ в максимуме полосы – 2,5-11,8 %. Обнаружено увеличение интенсивности УФЛ при допировании в 8,4-9,6 раз по сравнению с пленками $\text{ZnO}:\text{SiO}_2$. Изменение количества допанта не приводит к резким изменениям величины интенсивности. Так интенсивность УФЛ ($\lambda_{ex} = 260$) по сравнению с пленками с 0,1 % содержанием La^{3+} изменяется на 5-11 %.

Для пленок, допированных La^{3+} , исследовано влияние малых количеств ДНК. В случае $\text{ZnO}:\text{SiO}_2:\text{La}^{3+}$ наблюдали как тушение (максимально на 12 %), так возгорание (до 5 %) УФЛ. Монотонные зависимости (которые желательны для чувствительного элемента биосенсора) получены для образцов с содержанием La^{3+} 0,1 и 1,0 %.

Увеличение прозрачности пленок при допировании лантаном выгодно для их использования в оптоэлектронных устройствах. Усиление интенсивности УФЛ при допировании важно для разработки чувствительных поверхностей для биосенсорных элементов с увеличением соотношения полезного сигнала по отношению к «шуму». Заметное изменение оптических характеристик под действием малых количеств ДНК может быть использовано для разработки чувствительных элементов биосенсоров, а также исследования механизмов взаимодействия биомacroмолекул с поверхностями материалов, содержащих биологически активные элементы.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема 0082–2018–0006, регистрационный номер № АААА-А18-118020890097-1).

1. Meyer B. K., Alves H., Hofmann D. M., Kriegseis W., Forster D., et.al. Bound exciton and donor–acceptor pair recombinations in ZnO // *Phys. Stat. Sol. (b)*, 2004, vol. 241, № 2, pp. 231-260, DOI: 10.1002/pssb.200301962.

2. Boruleva E.A., Hayrullina I.A., Nagovitsyn I. A., Khoroshilov A.V., Sheshko T.F., Lobanov A.V., Chudinova G.K. Optical properties of Gd³⁺-doped ZnO:SiO₂ thin films // *Laser Phys. Lett.*, 2019, vol. 16, № 8, p. 085901, DOI: 10.1088/1612-202X/ab1bd8.

3. Ouarez L., Chelouche A., Touam T., Mahiou R., Djouadi D., Potdevin A. Au-doped ZnO sol-gel thin films: An experimental investigation on physical and photoluminescence properties // *J. Luminesc.*, 2018, vol. 203, pp. 222-229, DOI: 10.1016/j.jlumin.2018.06.049.

EFFECTS OF NANOPARTICLES ON BIOFILMS

Eftekhari A., Hosainzadegan H., Maghsoudi Z., Hasanzadeh A.

Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran

The emergence of new and resistant bacterial strains indicates the use of more effective antibiotic methods should be implemented in combating new emerging diseases. This makes it necessary to create safe and strong options for antibiotics.

Nanomaterials have emerged as new antibacterial agents for their unique chemical and physical properties. Silver nanoparticles are active against several types of bacteria. Related articles were searched and selected by the search strategy of the terms (nanosilver particles antibacterial) AND (mask equipment) AND (infection prevention) from general and scientific databases including Google, Google Scholar, Scopus, Web of Science and PubMed.

Therefore, the use of nanoparticles in medical equipment and other products provides an interesting opportunity to stay safe from new bacterial infections. Based on this review, literature indicate that the use of nanoparticles including nanosilver in medical-related products such as devices, masks, skin anti-septics or environmental disinfectants could act as a successful treatment for encountering with new emerging diseases in the future, which can be attractive from passive defense viewpoint when encountering with emerging diseases.

1. Martel J., Peng H.H., Young D., Wu C.Y., Young J.D. Of nanobacteria, nanoparticles, biofilms and their role in health and disease: facts, fancy and future // *Nanomedicine*, 2014, vol. 9 (4), pp. 483-499.

2. Sheng Zhiya, Yang Liu. Effects of silver nanoparticles on wastewater biofilms // *Water research*, 2014, vol. 45, № 18, pp. 6039-6050.

NANOTECHNOLOGY AS A SOLUTION TO DEAL WITH VIRAL INFECTIONS LIKE COVID-19

Hasanzadeh A.¹, Davaran S.², Eftekhari A.¹, Hosainzadegan H.¹, Maghsoudi Z.¹, Heidari F.¹, Hosainzadegan M.¹

¹ Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran, *amir.hasanzadeh61@yahoo.com*

² Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

The emergence of new and resistant viral strains indicates the use of more effective antiviral methods should be implemented in combating new emerging diseases. This makes it necessary to create safe and strong options for anti-virals.

Nanomaterials have emerged as new antiviral agents for their unique chemical and physical properties. Silver nanoparticles are active against several types of viruses. Related articles were searched and selected by the search strategy of the terms (nanosilver particles antiviral or antiviral) AND (mask equipment) AND (infection prevention) from general and scientific databases including Google, Google Scholar, Scopus, Web of Science and PubMed.

Therefore, the use of nanoparticles in medical equipment and other products provides an interesting opportunity to stay safe from new viral infections. Based on this review, literature indicate that the use of nanoparticles including nanosilver in medical-related products such as devices, masks, skin anti-septics or environmental disinfectants could act as a successful treatment for encountering with new emerging diseases in the future, which can be attractive from passive defense viewpoint when encountering with emerging diseases.

1. Galdiero S. et al. Silver nanoparticles as potential antiviral agents // *Molecules*, 2011, vol. 16 (10), pp. 8894-8918.

2. Yah C.S., Simate G.S. Nanoparticles as potential new generation broad spectrum antimicrobial agents // *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, vol. 23 (1), p. 43.

3. Ngoy J.M. et al. Covalent functionalization for multi-walled carbon nanotube (f-MWCNT)-folic acid bound bioconjugate // *Journal of Applied Sciences*, 2011, vol. 11 (15), pp. 2700-2711.

4. Adeli M., Hosainzadegan H., Pakzad I., Zabihi F., Alizadeh M., Karimi F. Preparation of silver nanoparticle containing starch foods and evaluation of antimicrobial activity // *Jundishapur J. Of Microbiology*, 2013, vol. 6 (4), p. e5075.

ПОИСК *IN SILICO* ВОЗМОЖНЫХ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ С НОСИТЕЛЯМИ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Search *in silico* of Possible Link Sites with Carrier at Immobilization of Proteolytic Enzymes

Панкова С.М.¹, Сакибаев Ф.А.¹, Королева В.А.¹, Ольшанникова С.С.¹, Холявка М.Г.^{1,2}, Артюхов В.Г.¹

¹ Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, sazykina.93@mail.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

В настоящее время достаточно подробно изучено применение протеолитических ферментов в пищевой, фармацевтической промышленности и медицине. Однако во многих случаях остаются неизвестными их природные субстраты, механизмы регуляции активности и физиологическая роль. Основным ограничением использования свободных ферментов является их относительная нестабильность. Одним из эффективных средств повышения стабильности энзимов является иммобилизация на матрицах полимерных носителей. Учитывая сложность протеолитических систем, участвующих в осуществлении всего многообразия жизненных функций организма, для понимания роли конкретной протеазы необходимо, по крайней мере, изучить *in silico* возможные сайты связывания с заряженными и гидрофобными полимерными матрицами носителей на поверхности молекул протеаз [1,2].

В качестве объектов исследования выступали трипсин быка фирмы «MP biomedical» (PDB ID: 5T3H), коллагеназа из *Clostridium histolyticum* (PDB ID: 4ARE), бромелин (PDB ID: 1W0Q), фицин (PDB ID: 4YYW) и папаин (PDB ID: 9PAP) фирмы «Sigma».

Выявление аминокислотных остатков на поверхности молекул ферментов с доступностью для растворителя не менее 20 % проводили с использованием программы Swiss-Pdb Viewer 4.1.0.

На поверхности молекулы папаина обнаруживается 80 аминокислотных остатков, фицина – 78, бромелина – 87, коллагеназы – 254, трипсина – 85, доступных для растворителя не менее чем на 20%. Среди них преобладают гидрофобные аминокислотные остатки. Абсолютное и относительное количество остатков аминокислот представлено в таблице 1.

Таблица 1. Абсолютное и относительное количество аминокислотных остатков на поверхности молекул протеаз

Тип остатков	Абсолютное количество					Относительное количество				
	Трип-син	Колла-геназа	Папаин	Фицин	Броме-лин	Трип-син	Колла-геназа	Папаин	Фицин	Броме-лин
Гидрофобные	26	64	35	24	36	30.5%	25%	44%	30%	41%
Положительно заряженные	12	58	14	16	18	14%	23%	17%	21%	21%
Отрицательно заряженные	4	53	6	17	7	5%	21%	8%	22%	8%
Незаряженные	43	79	25	21	26	50.5%	31 %	31%	27%	30%

На основании приведенных данных можно сделать вывод о том, что наиболее устойчивым будет связывание трипсина, фицина, папаина, бромелина и коллагеназы с гидрофобными носителями, поскольку для таковых имеется наибольшее количество сайтов связывания в виде гидрофобных аминокислотных остатков. Среди заряженных носителей, вероятно, наиболее стабильный комплекс с папаином и трипсином будут образовывать агенты с отрицательно заряженными матрицами, поскольку в данных случаях среди заряженных остатков преобладают заряженные положительно. Однако при разработке гетерогенных катализаторов на основе представленных в работе ферментов необходимо, помимо стабильности комплекса, также учитывать локализацию аминокислот на поверхности молекул белков, в том числе их положение относительно активного центра фермента.

Работа выполнена при финансовой поддержке в форме гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – докторов наук МД-1982.2020.4. Соглашение 075-15-2020-325.

1. Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Иммобилизованные биологические системы: биофизические аспекты и практическое применение. Издательский дом ВГУ, Воронеж, 2017, 261 с.

2. Сакибаев Ф.А., Панкова С.М., Дубовицкая А.Н., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Особенности структуры коллагеназы из *Clostridium histolyticum* и распределение заряженных и гидрофобных аминокислот на поверхности ее молекулы // В сборнике: Информатика: проблемы, методология, технологии. Сборник материалов XIX международной научно-методической конференции. Под ред. Д.Н. Борисова, 2019, с. 562-567.

МЕХАНИЗМ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ РАСТВОРА ЦНИИГПК-11₅ НА ЭРИТРОЦИТЫ ДОНОРСКОЙ КРОВИ ПРИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИИ

Mechanism of Protective Action of CNIGPK-11₅ Solution on Donor Blood Red Cells during Cryopreservation

Ходько А.Т.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков, Украина

В настоящее время в мировой криобиологии наиболее распространенными являются представления о том, что при охлаждении криобиологических систем реализуется фазовое превращение (ФП) типа жидкость-кристалл (LKPT). Однако из физической химии хорошо известно, что в жидких растворах легче реализуется фазовое превращение типа жидкость-жидкость (LLPT). Оба эти превращения относятся к первому роду и, следовательно, при своей реализации имеют тепловые и объемные эффекты, которые потенциально могут являться причиной криоповреждений. Современная цитология интенсивно изучает этот тип ФП, поскольку им объясняют образование безмембранных органелл в живых клетках [1].

В [2] было показано, что гемолиз эритроцитов при охлаждении сопровождается только PTLL. Добавление криоконсервантов предотвращает гемолиз, но при этом природа ФП во время охлаждения системы не изменяется. Логично предположить, что в этом случае может уменьшиться степень изменения объема системы при ФП в сторону его увеличения.

Целью работы является качественная оценка степени увеличения объема при ФП эритроконцентрата донорской крови при отсутствии и при наличии в криобиологической системе криоконсерванта.

Концентрат эритроцитов получали путем центрифугирования донорской крови, заготовленной на антикоагулянте ЦФД, при 1900g с последующим удалением надосадка. Криоконсервант ЦНИИГПК-11₅ имеет следующий состав: манит-40,0 г; натрия хлорид-7,0 г или ЕДТА Na₂-3,0 г; натрия фосфат двузамещенный – 0,3 г; глицерин-400 мл; вода для инъекций-до 1000,0 мл. После смешения в соотношении 1:1 в течении 10 минут эритроконцентрата с консервантом проводили повторное центрифугирование. Гемолизат эритроконцентрата получали путем его предварительного охлаждения в жидком азоте.

Консервирующий раствор, эритроконцентрат и эритроконцентрат обработанный консервирующим раствором помещали в стеклянные капилляры для определения гематокрита ТУ 4320-012-29508133-2009 длиной 75 мм и внутренним диаметром 1 мм («Минимед», Россия). Исследуемые образцы укладывались в пенопластовый лоток, который охлаждали на поверхности жидкого азота.

После охлаждения капилляры, заполненные криоконсервантом ЦНИИГПК-11₅ (рис. 1) и эритроконцентратом, который был обработан консервирующим раствором, сохраняли свою целостность (рис. 2). На рисунке 2 стикерами помечены капилляры с эритроконцентратом без добавления консерванта. Капилляры, содержащие нативный эритроконцентрат и его гемолизат механически разрушались (рис. 3). На рисунке 3 стикерами помечены капилляры с гемолизированным эритроконцентратом. Увеличение объема системы не зависит от того, находится ли цитоплазма внутри мембран эритроцитов или в свободном состоянии. Результаты эксперимента представлены на фотографиях.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что степень увеличения объема эритроцитов при охлаждении в присутствии криоконсерванта ниже, чем в нативных клетках.

Таким образом, механизм защитного действия раствора ЦНИИГПК-11₅ при криоконсервировании эритроконцентрата донорской крови состоит в уменьшении степени объемного расширения, при фазовом превращении типа жидкость-жидкость, цитоплазмы, химический состав которой модифицирован в результате добавления криоконсерванта.



Рисунок 1

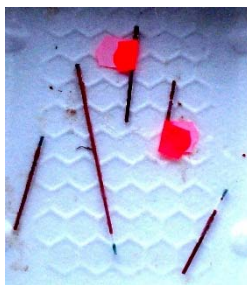


Рисунок 2

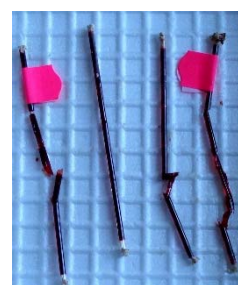


Рисунок 3

1. Боголюбов Д.С. Безмембранные органеллы эукариотической клетки: основные понятия и принципы формирования // Цитология, 2019, т. 63 (9), с. 683-703, DOI: 10.1134/S0041377119090049.

2. Ходько А.Т. Фазовый переход типа жидкость-жидкость как причина гемолиза эритроцитов при охлаждении // VI съезд биофизиков России. Сборник научных трудов, т. 2, с. 82. 16-21.09.2019 (г. Сочи).

THE EFFECT OF WI-FI ELECTROMAGNETIC WAVES ON THE PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF HOSPITAL-ACQUIRED BACTERIAL PATHOGENS

Hosainzadegan H., Eftekhari A., Moradzadeh M., Ganizadeh L., Hosainzadegan M.
Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran, *hasanhosainy122@yahoo.com*

Wi-Fi radiated electromagnetic energies could affect biological living organisms including pathogenic hospital environments bacterial hosts. In the present study, non-thermal effects of Wi-Fi have been evaluated on the phenotypic characteristics of four hospital-acquired antibiotic-resistant pathogens including *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, and *A. baumannii*.

Gram staining quality, arrangement, colony shape, growth rate, motility, and antibiotic resistance of the bacteria were assessed after 24-48hr Wi-Fi (2.4 GHz) exposure. The antibiotic susceptibility was conducted by the disc diffusion method. The growth rate of Wi-Fi exposed bacteria was assessed by both direct cultures from Wi-Fi exposed bacterial cultures and turbidimetry.

There was no difference in the motility of *P. aeruginosa* in the Wi-Fi exposed samples compared to control. While motility in Wi-Fi exposed *E. coli* was lower than controls. The staining quality of *S. aureus* after Wi-Fi was very weak in comparison to controls. The arrangement and staining quality of *P. aeruginosa* were abnormal after Wi-Fi exposure and the cells were up to 3 times greater than control.

Wi-Fi exposed *A. baumannii* were seen mainly as balloon shapes with disrupted abnormal shapes. All of the bacteria exposed to Wi-Fi, Viscous, and adhesive filaments were seen between bacteria. There were no differences in drug resistance studies between assessed bacteria.

1. Ng K.-H. Non-ionizing radiations-sources, biological effects, emissions and exposures. Proceedings of the international conference on non-ionizing radiation at UNITEN // (ICNIR2003) Electromagnetic Fields and Our Health 20 th–22 nd October 2003.

2. Said-Salman I.H., Jebaii F.A., Yusef H.H., Moustafa M.E. Evaluation of Wi-Fi radiation effects on antibiotic susceptibility, metabolic activity and biofilm formation by *E.coli* 0157H7, *S.aureus* and *S.epidermis* // Journal of Biomedical Physics and Engineering, 2019, vol. 9, № 5, pp. 579-586, DOI: 10.31661/jbpe.v0i0.1106.

3. Chokshi A., Sifri Z., Cennimo D., Horng H. Global Contributors to Antibiotic Resistance // J. Glob. Infect. Dis., 2019, vol. 11 (3), p. 131.

4. Samadi N., Pakzad I., Monadi Sefidan A., Hosainzadegan H., Tanomand A. Study of aminoglycoside resistance genes in enterococci and salmonella strains, Isolated from Ilam and Milad hospital, Jundishapur // J. Of Microbiology, 2015, vol. 8 (4), p. e18102.

АКТИВАЦИЯ МАКРОФАГОВ НА РУТЕНИЙСОДЕРЖАЩИХ ЭЛЕКТРОДНЫХ МАТЕРИАЛАХ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДАМИ ВЫСОКОСКОРОСТНОГО ЛАЗЕРНОГО СИНТЕЗА

Activation Of Macrophages On Ruthenium Containing Electrode Materials Obtained By High-Speed Laser Synthesis Methods

Черенков И.А.^{1,2}, Харанжевский Е.В.¹, Сергеев В.Г.^{1,2}

¹ Удмуртский государственный университет, г. Ижевск, РФ, *ivch75@yandex.ru*

² Ижевская государственная медицинская академия, г. Ижевск, РФ

В последние десятилетия широкое распространение получили методы высокоскоростного лазерного синтеза (ВЛС) для создания каталитически активных кластеров металлов на электродных поверхностях. С помощью ВЛС удалось сформировать на поверхности планарного графитового электрода структуры Ru/RuO₂, продемонстрировавшие чувствительность к малым концентрациям пероксида водорода [1]. Это согласуется с исследованиями о пероксидазоподобных свойствах наноструктур рутения, окисляющих 3,3',5,5'-тетраметилбензидин пероксидом водорода, примерно в три раза более активно, чем природные пероксидазы. При этом структуры на основе рутения, как миметики пероксидазы, оказались химически и термически стабильными [2]. Перспективным представляется использование каталитически активных наноструктур на основе рутения в клеточных биоэлектрохимических системах.

Целью настоящей работы стало экспериментальное обоснование использования ВЛС-электродов, содержащих каталитически активные структуры рутения, для оценки активации перитонеальных макрофагов в биоэлектрохимическом эксперименте.

В качестве электрода-основы использовали планарные трехэлектродные системы (ООО «Автоком», Москва, Россия). Спиртовой раствор рутения (IV) гидроксохлорида наносили на поверхность рабочего электрода. После высушивания поверхности электрода осуществляли лазерную обработку в защитной среде. Для короткоимпульсной лазерной обработки использовали импульсный иттербиевый оптоволоконный лазер номинальной мощностью 50 Вт с длиной волны 1,065 мкм. Электрод перед экспериментом промывали стерильным фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБ).

Исследование электрохимических характеристик проводили при фиксированном потенциале -600 мВ (относительно хлоридсеребряного электрода) на потенциостате-измерителе импеданса EcoLab 2A-500 (ООО «Эковектор», Ижевск, Россия). Фоновым электролитом во всех экспериментах служил 0,15 М ФСБ (pH=7,2).

Макрофаги получали по общепринятым методикам от интактных крыс. После подсчета клеток суспензию делили на две части – контрольную (инкубировали в стерильном ФСБ) и опытную (инкубировали в ФСБ, содержащем липополисахарид *Salmonella typhi* (ЛПС)).

Исследование элементного состава поверхности ВЛС-электрода показало, что содержание кислорода недостаточно для формирования стехиометрического оксида RuO₂. В результате лазерной обработки, вероятно, возникает смешанное состояние нульвалентного рутения и его диоксида. Это может быть следствием частичного восстановления металла парами углерода при лазерной обработке в использованных режимах. Полученные соединения обладают чувствительностью к пероксиду водорода [1].

При нанесении на электрод клеток, инкубированных в стерильном ФСБ, обнаружено снижение показателей силы тока относительно бесклеточной системы. Это объясняется частичным блокированием свободной поверхности электрода адсорбированными клетками и, возможно, поглощением макрофагами кислорода из фонового электролита. При адсорбции клеток, инкубированных с ЛПС, обнаружен рост показателей силы тока относительно контрольного образца. ЛПС служит для макрофагов праймирующим агентом, воздействие которого на Toll-подобные рецепторы способствует реализации нефагоцитарного защитного механизма – «респираторного взрыва», одним из продуктов которого является пероксид водорода.

Полученные результаты позволяют перейти к разработке безреагентных сенсоров на основе ВЛС-электродов, поскольку пероксид водорода является естественным метаболитом многих типов клеток [1,3,4]. Рутенийсодержащий ВЛС-электрод может стать электрохимическим интерфейсом для их изучения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00177.

1. Черенков И.А., Харанжевский Е.В., Костенкова И.С. Датчик пероксида водорода на основе каталитически активных систем Ru-RuO₂, полученных методом высокоскоростного лазерного синтеза // Медицинская техника, 2019, № 6, с. 33-35.

2. Ye H., Mohar J., Wang Q., Catalano M., Kim M.J., Xia X. Peroxidase-like properties of ruthenium nanoframes // Sci. Bull., 2016, vol. 61, № 22, pp. 1739-1745.

3. Carvalho D.P., Dupuy C. Thyroid hormone biosynthesis and release // Mol. Cell. Endocrinol., 2017, vol. 458, pp. 6-15.

4. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. Минск: БГУ, 2008, 159 с.

ГЛИКОЗИЛАМИНЫ *n*-АМИНОАЦЕТАНИЛИДА КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛИ

Glycosylamines of *p*-Aminoacetanilide as Molecular Gelators

Черепанов И.С., Корепанова Я.С.

Удмуртский государственный университет, г. Ижевск, РФ, cherchem@mail.ru

Исследования производных аминов, содержащих в структуре фрагменты, способные к образованию водородных связей, создают основу представлений о молекулярном строении вещества, создании и функционировании материалов с заданными свойствами. Модификация аминов углеводами позволяет получать потенциально мезогенные биологически активные соединения, способных к специфическим межмолекулярным взаимодействиям. Интерес к подобным структурам растет в связи с расширением возможностей использования новых материалов в современных областях нано- и биотехнологий [1], в том числе их применению в качестве молекулярных гелеобразователей [2].

Целевые продукты были получены прямым синтезом при взаимодействии исходных компонентов – D-глюкозы (0,002 моль) с *n*-аминоацетанилидом (0,002 моль) в среде безводного этанола (70°C, 0,5-1,5 часа). Независимо от продолжительности синтеза, при удалении избытка растворителя продукт выделялся в гелеобразной форме (рис. 1А), высушивание последнего приводит к твердому продукту.

Межмолекулярные взаимодействия, способствующие гелеобразованию, фиксируются на ИК-Фурье спектрах продуктов в гелевой фазе и растворе (рис. 1В).

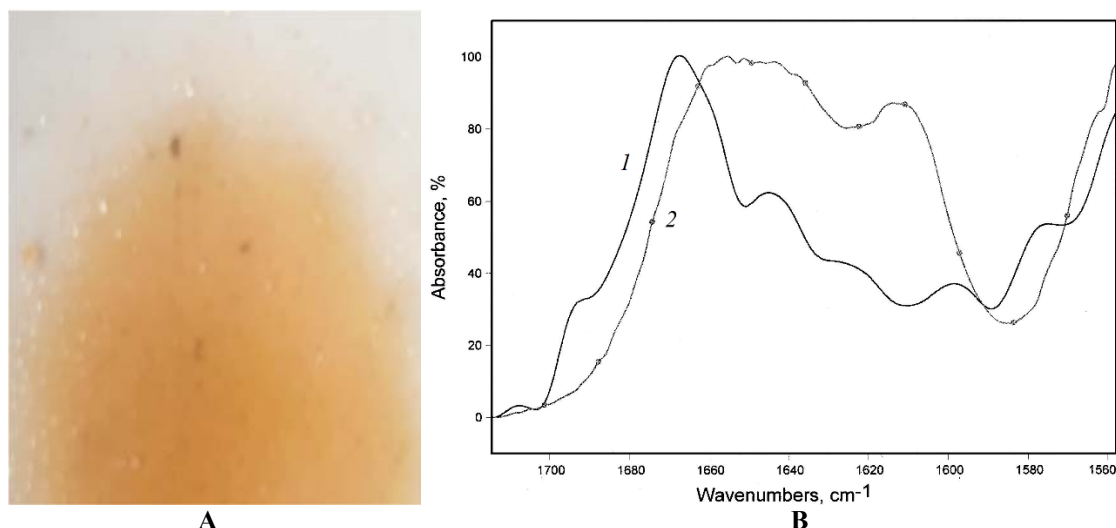


Рисунок 1. Выделенный в форме геля продукт (А); ИК-Фурье спектры гликозиламинов *n*-аминоацетанилида (синтез в течение 1 часа): 1 – раствор (МНПВО); 2 – продукт в форме геля (В)

Ведущую роль в гелеобразовании в исследуемых системах играют, вероятно, Gly-NH-связи: полосы 1610 и 1562 cm^{-1} (δ_{NH}) в спектре 2 проявляются в растворе при 1644 и 1578 cm^{-1} (спектр 1), что свидетельствует об усилении межмолекулярных водородных связей в гелевой фазе [3]. Кроме того, дополнительное содействие оказывают амидные функции и ароматические циклы: в интервале 1600-1670 cm^{-1} при переходе от твердой фазы к гелю наблюдается усиление и уширение комбинированной полосы, относимой к колебаниям указанных фрагментов структуры. Последний эффект по данным расчетов связан со комплексным межмолекулярным взаимодействием амидных, Gly-NH групп и ароматических колец [3]. Следует тем не менее отметить, что гелевая фаза образуется в небольшом количестве, что, вероятно, связано с природой растворителя: образующий H-связи этанол не в полной мере способствует гелеобразованию [2].

Полученные данные позволяют сделать вывод о наличии процессов межмолекулярного взаимодействия фрагментов гликозиламинов *n*-аминоацетанилида, в том числе и с молекулами растворителя, приводящие к формированию гелеобразных структур.

1. Волкова Т.Г., Таланова И.О. ИК-спектроскопическое исследование строения глюкозы в продуктах конденсации с пентиловым эфиром *p*-аминобензойной кислоты // *Вестник Ивановского университета. Серия «Естественные, общественные науки»*, 2015, № 1, с. 27-32.

2. John G., Shankar B., Jadhav S., Kumar Vemula P. Biorefinary: a design tool for molecular gelators // *Langmuir*, 2010, vol. 26, № 23, pp. 17843-17851, DOI: 10/1021/la100785r.

3. Soundarajan K., Mohan Das T. Sugar-benzohydrazide based phase selective gelators for marine oil spill recovery and removal of dye from polluted water // *Carbohydr. Res.*, 2019, vol. 481, pp. 60-66, DOI: 10.1016/j.carres.2019.06.01.

АСМ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОК КРОВИ AFM Methods for Research Blood Cells

Черныш А.М.^{1,2}, Козлова Е.К.^{1,2}, Сергунова В.А.¹, Гудкова О.Е.¹, Шерстюкова Е.А.^{1,2}, Козлов А.П.²

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР, г. Москва, РФ, orbfb@mail.com

² Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ

Исследования клеток крови и их мембран на молекулярном уровне являются важным направлением развития современной медицины. Атомно-силовой микроскоп (АСМ) является универсальным прибором для исследования структурных и механических свойств широкого спектра биологических объектов. Применение АСМ позволяет получить изображения клеток в масштабе от нескольких микрометров до долей нанометров, а также легко исследовать их деформационную способность в жидкости. Воздействие различных физико-химических факторов, заболевания, длительное хранение донорской крови приводят к изменению структурных и функциональных свойств эритроцитов. В конечном счете повреждение мембраны приведет к развитию патологических процессов. Состояние мембран эритроцитов и сохранение целостности важно для их прохождения через капиллярную сеть и реологию крови в целом. Цель работы – с помощью АСМ выявить нарушения мембран эритроцитов и их механических свойств при различных воздействиях *in vitro*.

В данной работе объектами исследования являлись мембраны эритроцитов. Анализ морфологии эритроцитов и наноструктуры их мембран, а также оценка структуры цитоскелета проводились на атомно-

силовом микроскопе NTEGRA Prima (NT-MDT Spectrum Instruments, Россия). Использовались кантилеверы NSG01 (Tipsnano, tipsnano.com) радиусом 10 нм. Оценку наноповерхности мембран эритроцитов проводили в программе Femtoscan (Femtoscan, Россия). В программе Image Analysis P9 (NT- Spectrum Instruments, Россия) были рассчитаны характерные размеры сети цитоскелета. С помощью метода атомно-силовой спектроскопии оценивались биомеханические свойства эритроцитов. Для этого были измерены силовые кривые $F(h)$ в жидкости кантилеверами SD-R150-T3L450B-10 (Nanosensors, Швейцария), радиусом зонда 150 нм. По силовым кривым на основе модели Герца рассчитывали модуль Юнга (E) мембран эритроцитов в программе OriginPro 2019 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, США).

При воздействии мембранных модификаторов на эритроциты наблюдалось нарушение молекулярной структуры мембран эритроцитов. Добавление гемина к эритроцитам вызывало изменение формы клеток от дискоцитов к сфероэхиноцитам. Характерной особенностью было возникновение топологических дефектов в виде доменов с зернами размером 170 нм. Воздействие препарат верапамил в концентрации 0,6 мМ приводило к формированию несквозных пор диаметром 450-600 нм. Воздействие УФ излучения приводило к развитию полиморфизма: появлялись стоматоциты, эхиноциты, сфероэхиноциты, сфероциты, тени.

В исследовании крови пациентов при критических состояниях, травмах, инсультах, тромбозах вен около 30±4% эритроцитов из дискоцитов трансформировались в кодоциты (мишеневидные эритроциты), стоматоциты, дакриоциты (слезовидные эритроциты), эхиноциты и овалоциты. В тоже время на мембране эритроцитов наблюдались локальные дефекты как на торе, так и на впадине. На всех мазках были замечены активные тромбоциты, что является сигналом развития воспалительных патологий.

Во время длительного хранения крови происходили существенные биохимические и биофизические изменения. К 42 дню хранения эритроциты становились эхиноцитами и сфероэхиноцитами. В наноструктуре мембран эритроцитов образовывались дефекты в виде зерен, которые по мере хранения превращались в высокие выросты (спикулы). Изменение морфологии эритроцитов и наноструктуры их мембран было вызвано нарушением структурной организации сети цитоскелета. По мере хранения эритроцитов наблюдалось увеличение размеров сети цитоскелета в 2 и более раз.

С другой стороны, физико-химическое воздействие приводило к росту модуля Юнга мембран. Так при длительном хранении крови модуль Юнга увеличился в 2 раза в конце срока хранения. При действии ультрафиолетового излучения локальная жесткость мембран эритроцитов возрастала в 1,5-2 раза. Под действием тяжелых ионов металлов на мембраны эритроцитов величина E увеличилась в 3 раза по сравнению с контролем. При воздействии верапамила на кровь значение E не изменялось.

Таким образом, полученные данные показывают эффективность использования АСМ для раннего выявления изменений мембран эритроцитов и прогнозов возможных нарушений реологических свойств крови.

1. Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Manchenko E., Moroz V., Kozlov A. Conformational distortions of the red blood cell spectrin matrix nanostructure in response to temperature changes *in vitro* // Scanning, 2019, vol. 2019, art. ID 8218912, DOI: 10.1155/2019/8218912.

2. Kozlova E., Chernysh A., Manchenko E., Sergunova V., Moroz V. Nonlinear biomechanical characteristics of deep deformation of native RBC membranes in normal state and under modifier action // Scanning, 2018, vol. 2018, art. ID 1810585, DOI: 10.1155 / 2018/1810585.

3. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Sergunova V., Gudkova O., Manchenko E. Morphology, membrane nanostructure and stiffness for quality assessment of packed red blood cells // Scientific Reports, 2017, vol. 7, № 1, pp. 7846, DOI: 10.1038/s41598-017-08255-9.

4. Гречко А.В., Молчанов И.В., Сергунова В.А., Козлова Е.К., Черныш А.М. Дефекты мембран эритроцитов у пациентов с нарушениями функции головного мозга (пилотное исследование) // Общая реаниматология, 2019, т. 15, № 6, с. 11-20, DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-11-20.

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА МЫШИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОГРАВИТАЦИИ

The Dynamics of Gene Expression in the Sciatic Nerve of Mice in Modeling Hypogravity

Шаймарданова Г.Ф.^{1,2}, Гайсин И.А.², Васильева А.Р.², Краснова Л.А.²

¹ Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, РФ

² ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, РФ, gulnara-f-kzn@mail.ru

В работе дана характеристика транскрипционной активности генов *dlg4*, *mpz*, *anxa5*, *agrn*, *chat* в условиях длительного антиортостатического вывешивания. Соответствующие белки играют важную роль в обеспечении структуры и проводимости периферического нерва. Выбранные гены, согласно результатам транскриптомного анализа спинного мозга [1], увеличили уровень активности после 30-суточного пребывания в космосе. Организация модельного эксперимента на Земле позволила проследить динамику изменений в зависимости от длительности вывешивания, а также дифференцировать эти проявления в зависимости от функционального назначения нервных волокон. По нашим данным, выделяется приблизительно двухнедельный период, в течение

которого система пытается функционировать без радикальных перестроек своего метаболизма. По истечении этого периода включаются адаптационные механизмы, выражающиеся в резкой активации указанных генов и быстрому накоплению структурных изменений в нервных волокнах.

На основании сопоставления транскрипционной активности с морфологическими проявлениями адаптационных изменений в ультраструктуре нервных волокон [2,3] сделан вывод о том, что чувствительные волокна относительно сильнее, чем двигательные, реагируют на длительное вывешивание.

Таблица 1. Уровень транскрипционной активности генов в седалищном нерве мыши при различных сроках антиортостатического вывешивания

	Mpz (P0)	Chat (Choline acetyltransferase)	Dlg4 (PSD)	Anxa5 (Annexin V)	Agri (Agrin)
Контроль	1,22	0,81	1,26	1,53	1,33
3 сут	1,12	0,59	0,96	0,79	0,89
14 сут	0,6	0,29	0,54	2,11	1,48
21 сут	1,51	3,35	0,82	5,2	0,43
30 сут	0,66	1,64	3,71	8,72	3,71

Исследование поддержано грантом РФФИ №17-04-01404

1. Кузнецов М.С., Резвяков П.Н., Лисюков А.Н., Волков К.Д., Исламов Р.Р., Никольский Е.Е. Транскриптомный профиль спинного мозга мыши после 30-суточного космического полета на биоспутнике «Бион-М1» и последующей 7-суточной реадaptации на Земле // Авиакосмическая и экологическая медицина, 2017, т. 51, № 7, DOI: 10.21687/0233-528X-2017-51-7-85-87.

2. Шаймарданова Г.Ф., Сальников В.В. Локализация аннексина V и агрина в волокнах интактного седалищного нерва мыши // Нейрохимия, 2020, № 3 (в печати).

3. Rezvyakov P.N., Shaimardanova G.F., Lisukov A.N., Kuznetsov M.S., Islamov R.R., Nikolskiy E.E. Morphological Study of Myelinated Fibers of the Sciatic Nerve in Mice after Space Flight and Readaptation to the Conditions of Earth Gravity // Doklady Biological Sciences, 2018, p. 482, DOI: 10.1134/S0012496618050101.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С МОЛЕКУЛОЙ ДНК

Determination of Thermodynamic Parameters of Binding of Low-molecular Biologically Active Compounds with a DNA Molecule

Шеховцов Н.В., Морощкина Е.Б.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, evmorosh@mail.ru

Молекула ДНК является мишенью для действия многих биологически активных соединений, обладающих как противомикробной, так и противоопухолевой активностью. Именно этим обусловлено внимание к процессу комплексообразования ДНК с различными низкомолекулярными соединениями (лигандами). В литературе авторы используют различные модели и способы расчета термодинамических параметров связывания лигандов с ДНК, которые часто дают существенно различающиеся результаты.

В настоящей работе рассмотрены и проанализированы различные подходы, используемые в литературе для определения параметров связывания низкомолекулярных лигандов с ДНК; разработана программа для расчета термодинамических параметров для случая двух способов связывания по модели с исключенными местами связывания; проведено сравнение результатов расчетов термодинамических параметров связывания, полученных с использованием различных моделей.

Методами спектрофотометрического титрования и плавления было исследовано комплексообразование ДНК с тремя известными соединениями: бромистым этидием, феносафранином и акрифлавином, которые являются производными фенантридинового, феназинового и акридинового рядов, соответственно, в условиях реализации одного или нескольких типов связывания: в 0,1M NaCl и 0,001M NaCl, соответственно. Полученные экспериментальные результаты были затем использованы для расчета термодинамических параметров связывания: константа связывания (K), размер места связывания (n), кооперативность связывания (w) с помощью различных моделей: модель Скэтчарда [1], модель Мак Ги и фон Хиппеля [2], и широко используемый в настоящее время метод обратных координат (DRP) [3]. Для моделирования комплексов на основании уравнений Мак Ги и фон Хиппеля в среде Matlab версии R2019b написана программа поиска оптимальных параметров модели.

Проведенный анализ показал, что даже в простых случаях одного типа связывания лиганда с ДНК различные модели и способы расчета параметров связывания дают заметно различающиеся результаты (табл. 1).

Таблица 1. Один тип связывания (0,1M NaCl)

Соединение	Способ определения параметров связывания						Повышение температуры плавления относительно свободной ДНК
	DRP	Уравнение Скотчарда		Модель Мак Ги и фон Хиппеля			
	K, M ⁻¹	K, M ⁻¹	n	K, M ⁻¹	n	w	
Бромистый этидий	(4.3 ±0.4)*10 ⁴	(3.7 ±0.3)*10 ⁴	2.2 ±0.3	(3.0 ±0.3)*10 ⁴	2.0 ±0.1	5.0 ±0.5	8 К
Феносафранин	(5.1 ±0.8)*10 ⁴	(6.5 ±0.9)*10 ⁴	7 ±1	(1.9 ±0.2)*10 ⁵	4.5 ±0.3	1.8 ±0.4	Отсутствует

Предлагаемая в работе программа обработки экспериментальных результатов позволила рассчитать термодинамические параметры связывания в условиях существования двух типов связывания (в предположении их независимости) (табл. 2).

Таблица 2. Два типа связывания (0,001M NaCl)

Соединение	Модель Мак Ги и фон Хиппеля						Повышение температуры плавления относительно свободной ДНК
	K ₁ , M ⁻¹	n ₁ (пара нуклеотидов)	w ₁	K ₂ , M ⁻¹	n ₂ (нуклеотид)	w ₂	
Бромистый этидий	(3.0 ± 0.4)*10 ⁶	2.1 ± 0.4	2.3 ± 0.2	(5 ± 1)*10 ⁴	1,3 ± 0.1	-	40 К
Феносафранин	(1.9 ± 0.3)*10 ⁵	1.7 ± 0.2	5.5 ± 0.7	(4 ± 1)*10 ⁴	1.2 ± 0.1	9 ± 1	25 К
Акрифлавин	(1.4 ± 0.2)*10 ⁷	1.9 ± 0.1	1.27 ± 0.08	(2.0 ± 0.3)*10 ⁵	1.2 ± 0.1	1.7 ± 0.1	40 К

1. Scatchard G. The Attraction of Proteins for Small Molecules and Ions // Annals of the New York Academy of Science, 1949, vol. 51, pp. 660-672.

2. McGhee J.D., von Hippel P.H. Theoretical Aspects of DNA-Protein Interactions: Co-operative and Non-co-operative Binding of Large Ligands to a One-dimensional Homogeneous Lattice // Journal of Molecular Biology, 1974, vol. 86, pp. 469-489.

3. Li H.J., Crothers D.M. Relaxation Studies of the Proflavine–DNA Complex: The Kinetics of an Intercalation Reaction // Journal of Molecular Biology, 1969, vol. 39, pp. 461-477.

ГЕНОМ-ЦЕНТРИРОВАННАЯ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СИСТЕМНО-КИБЕРНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ В ЗАДАЧАХ ОПТИМАЛЬНОГО СИНТЕЗА РАЦИОНОВ ЧЕЛОВЕКА

Genome-centered Intelligent System-cybernetic Structured Model for Optimal Synthesis of Human Diets

Шлихт А.Г.

Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, РФ, schliht@mail.ru

Как говорил академик Сергей Капица «Наука о питании, это наука 21 века». Современные достижения в области генетики, биохимии, информационных технологий позволили существенно расширить наши знания и возможности по технологиям, качеству и безопасности питания. В настоящее время наработаны многочисленные рекомендации в сфере питания: по нормам питания, химическому составу сырья и готовых блюд, потерь тепловой обработки, различных фенотипических факторов (возраст, рост, вес, характера физической нагрузки, генетические особенности индивида), ограничений, связанных с заболеваниями (фенилкетонурия, целиакия, галактоземия и др.). Учет этого многообразия факторов требует привлечения системно-кибернетических и информационных технологий. Решающее значение в анализе и синтезе рационов имеют количественные сбалансированные оценки химического состава рациона, которые получить довольно сложно, учитывая сотни и тысячи нутриентов, продуктов. В сущности, необходимо каждый раз решать задачу персонализированного питания. Но, как же достигнуть этого в условиях многочисленного контингента.

Целью работы является создание интеллектуальной информационной системы анализа и оптимального синтеза рациона человека. В основу синтеза рациона положен фундаментальный системно-кибернетический подход с прямой цепью связи управления, производящей анализ произвольного рациона и цепи обратной связи, в которой осуществляется оптимальная коррекция произвольного рациона. В состав системно-кибернетической структурированной модели на базе модели пространства состояний входят: блок норм питания; анализ рациона; блок оценки рациона и сравнение его со стандартным; оптимальный регулятор в цепи обратной связи, строится по технологии экспертных систем с дополнительной оптимизацией на базе линейного программирования (реализация задачи о диете). Оптимальный регулятор в цепи обратной связи определяет дефицитные нутриенты

и дает рекомендации по качественному и количественному составу дополнительных продуктов. Конечно, надо производить анализ химического состава традиционного рациона, но это достаточно простая задача.

Другой важной особенностью современной теории и практики питания является учет геномного статуса индивида. Синтез рациона необходимо строить исходя из генетических мутаций в геноме человека. Мутации в кодируемых генах дают мутации в белках. Если этот белок фермент, то происходит нарушение биохимических реакций, далее метаболических путей и физиологических процессов, которые являются причиной заболевания. Здесь важно учесть последствие генетических отклонений и создать, если они связаны с питанием, соответствующие рационы. Для решения задач анализа и оптимального сбалансированного синтеза рациона с учетом генотипа были созданы соответствующие базы данных (БД) и базы знаний (БЗ): норм питания, сырья, рецептов блюд, химического состава сырья и блюд, ограничений в питании, суточных рационов, введены формулы питания (по А.А.Покровскому), БД генома, транскриптома, протеома для определения геномного статуса индивида. Важны первичные данные, они берутся из справочников или экспресс анализа. Создана оболочка экспертной системы с глубокими знаниями, разработан интеллектуальный интерфейс работы с информационной системой. Для работы с интеллектуальной системой не требуются глубокие знания в области информатики. Созданные БД и БЗ позволяют проводить комплексный анализ и синтез рационов в системе ГЕНОТИП-ФЕНОТИП, а также решать задачи, связанные с нутригенетикой, нутригеномикой, токсикогеномикой, фармакогеномикой, орфанными заболеваниями.

Достоинством разработанной системы является то, что она не ограничивает индивида строгими рамками рациона, который получается на базе оптимальной задачи о диете, а позволяет питаться по традиционной схеме питания, но с дополнительными нутриентами, получаемыми в цепи обратной связи для коррекции рациона. Как правило, это составляет значительно меньшую долю общих затрат на питание, но требует более строгого подбора сырья и готовых продуктов, а также дисциплины питания.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ФЕРРИТИНОМ И МИТОХОНДРИЯМИ

Interaction of Dinitrosyl Iron Complexes with Ferritin and Mitochondria

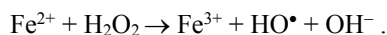
Шумаев К.Б.^{1,2}, Медведева В.А.², Иванова М.В.², Рууге Э.К.²

¹ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ, tomorov@mail.ru

² «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» МЗ РФ, г. Москва, РФ

В последние годы появляется всё больше данных, что метаболизм оксида азота (NO), активных форм кислорода (АФК) и гомеостаз железа в живых системах взаимосвязан [1-5]. Предполагают также, что важную роль в этих процессах играют динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ). Эти соединения обладают широким спектром биологической активности, в том числе могут взаимодействовать с АФК и проявлять антиоксидантные свойства [3-5]. Наиболее хорошо исследованы тиол-содержащие ДНКЖ, парамагнитная моноядерная форма которых имеет формулу $[(RS^-)_2-Fe^+-(NO^+)_2]$.

В наших экспериментах с помощью спектроскопии ЭПР было показано, что тиол-содержащие ДНКЖ могут продуцироваться в присутствии различных доноров NO, низкомолекулярных тиолов и ферритина – белка, являющегося основным депо железа в организме. Ранее было выдвинуто предположение, что митохондриальные изоформы этого белка могут быть источником двухвалентного железа Fe^{2+} , необходимого для синтеза ДНКЖ [5]. В условиях генерирования супероксидного радикала изолированными митохондриями из сердца крыс или в системе ксантин-ксантиноксидаза наблюдалось снижение сигнала ЭПР парамагнитных глутатионовых ДНКЖ. Следует отметить, что уровень супероксида в обоих моделях был близок и оценивался по образованию семихинона TIRON. Добавление ферритина в суспензию митохондрий приводило к увеличению скорости разрушения ДНКЖ. Установлено, что этот эффект был количественным в используемом диапазоне концентраций ферритина (0,65 - 2,5 мг/мл). Аналогичные результаты были получены для супероксид-генерирующей системы ксантин-ксантиноксидаза. Известно, что супероксид участвует в высвобождении железа из ферритина [5]. Вместе с тем, ионы Fe^{2+} могут катализировать образование гидроксильного радикала в реакции Фентона [3]:



Образование пероксида водорода (H_2O_2) в этих условиях происходит в результате дисмутации супероксида. Интересно, что добавление H_2O_2 к реакционной среде с ферритином и тиол-содержащими ДНКЖ приводило к разрушению этих комплексов, хотя и более медленному, чем в среде, содержащей Fe^{2+} вместо ферритина. Таким образом, в системах моделирующих окислительный стресс в присутствии ферритина глутатионовые ДНКЖ разрушаются под действием АФК (супероксида, H_2O_2 и гидроксильного радикала), причём процесс усиливается по механизму обратной положительной связи, поскольку при распаде комплексов также высвобождаются ионы железа.

Вместе с тем, в суспензии митохондрий деструкция ДНКЖ происходила медленнее, чем в реакционной среде с ксантином и ксантиноксидазой. На основании литературных данных и проведенных нами ранее исследований можно считать, что ДНКЖ при взаимодействии с супероксидом превращается в комплекс, содержащий связанный пероксинитрит (ONOO) [4-6]. Однако, при избытке свободных тиолов или других доноров электронов такой

комплекс может регенерироваться до ДНКЖ или иных нитрозильных комплексов железа. Нельзя исключить, что ферментативные системы митохондрий также могут участвовать в регенерации ДНКЖ.

Драматические события, происходящие в клетке при окислительном стрессе, зависят от продукции активных форм кислорода и азота, а также от уровня других редокс-активных соединений, в первую очередь ионов железа и тиолов. Полученные нами данные позволяют заключить, что митохондрии, динитрозильные комплексы железа с тиольными лигандами и ферритин являются ключевыми элементами, регулирующими баланс этих соединений.

Работа поддержана грантами РФФИ № 18-015-00125 и 19-015-00444.

1. Kim S., Ponka P. Nitrogen monoxide-mediated control of ferritin synthesis: Implications for macrophage iron homeostasis // *PNAS*, 2002, vol. 99, №19, pp. 12214-12219, DOI: 10.1073/pnas.192316099.

2. Watts R.N., Richardson D.R. The mechanism of nitrogen monoxide (NO)-mediated iron mobilization from cells // *Eur. J. Biochem.*, 2002, vol. 269, № 14, pp. 3383-3392, DOI: 10.1046/j.1432-1033.2002.02987.x.

3. Lu C., Koppenol W.H. Inhibition of the Fenton reaction by nitrogen monoxide // *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2005, vol. 10, № 7, pp. 732-738, DOI: 10.1007/s00775-005-0019-z.

4. Shumaev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A., Lobysheva I.I., Kosmachevskaya O.V., Ruuge E.K., Lankin V.Z., Topunov A.F., Vanin A.F. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin – and hemoglobin bound dinitrosyl iron complexes // *Nitric Oxide*, 2008, vol. 18, № 1, pp. 37-46, DOI: 10.1016/j.niox.2007.09.085.

5. Shumaev K.B., Dudylyna A.L., Ivanova M.V., Pugachenko I.S., Ruuge E.K. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria // *Biofactors*, 2018, vol. 44, № 3, pp. 237-244, DOI: 10.1002/biof.1418.

6. Tran N.G., Kalyvas H., Skodje K.M. Hayashi T., Moënné-Loccoz P., Callan P.E., Shearer J., Kirschenbaum L.J., Kim E. Phenol nitration induced by an $\{Fe(NO)_2\}^{10}$ dinitrosyl iron complex // *JACS*, 2011, vol. 133, № 5, pp. 1184-1187.

АНТИАГРЕГАЦИОННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ, СОДЕРЖАЩИЙ ЛИПОЕВУЮ КИСЛОТУ С КАРНОЗИНОМ

Antiaggregation Effect of the Liposomal form Containing Lipoic Acid with Carnosine

Щелконогов В.А.^{1,2,3}, Баранова О.А.², Чеканов А.В.², Казаринов К.Д.³, Шастина Н.С.¹, Стволинский С.Л.⁴,
Федорова Т. Н.⁴, Соловьева Э.Ю.², Федин А.И.², Сорокоумова Г.М.¹

¹ МИРЭА-Российский технологический университет (ИТХТ), г. Москва, РФ, vasiliy9999@yandex.ru

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
Минздрава России, г. Москва, РФ

³ ФГБУН Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, г. Фрязино, РФ

⁴ ФГБНУ «Научный центр неврологии», г. Москва, РФ

Получены липосомы, содержащие две лекарственные субстанции карнозин и липоевую кислоту, характеризующиеся эффективностью включения липоевой кислоты равной 68% и карнозина 55% и высокой стабильностью в течение 9 месяцев. Оценено влияние полученных липосомальных препаратов на накопление ТБК-активных продуктов и на агрегацию тромбоцитов.

Сосудистые заболевания головного мозга находятся на втором месте среди всех причин смерти, уступая заболеваниям сердечно-сосудистой системы и опережая онкологическую патологию. Не менее, важен фактор ишемии в развитии хронических нарушений мозгового кровообращения, вследствие чего образуется сосудистая деменция [1]. В результате ишемического повреждения происходит уменьшение мозгового кровотока, возникновение и прогрессирование окислительного стресса; микроциркуляторные нарушения, воспалительные реакции, повреждение гематоэнцефалического барьера и др. [2]. В связи с этим разработка рациональных лекарственных форм, позволяющих увеличивать биодоступность фармацевтических субстанций и их направленную доставку к месту патологии – это важнейшие задачи при создании новых лекарственных форм известных препаратов.

Данная работа посвящена созданию комбинированной липосомальной лекарственной формы, содержащей одновременно две субстанции: карнозин (К) и липоевую кислоту (ЛК). Эти оба вещества проявляют антиоксидантные свойства и применяются при различных патологиях, в том числе и при нейродегенеративных заболеваниях. К сожалению, они характеризуются низкой биодоступностью, ЛК- плохо растворяется в воде, в организме быстро связывается с белками и биodeградирует под действием различных ферментов, а К- быстро расщепляется ферментом карнозиной. Поэтому для устранения вышеперечисленных недостатков ЛК и К нами предложено использовать их липосомальную форму.

В результате работы были и получены липосомы сферической формы, содержащие ЛК с карнозином, с размером частиц равным 245 нм, характеризующиеся эффективностью включения ЛК- 68% и для К- 55% и высокой стабильностью в течение длительного хранения при комнатной температуре.

Исследование антиоксидантной активности этих двух субстанций в модельной системе (реакция Фентона) показало, что при одновременном их использовании в концентрации 10 мМ - К и 24 мМ – ЛК, значительно (в 12 раз) снижается содержание продуктов окисления липидов (ТБК-активных продуктов)

Изучение влияния комбинированного липосомального препарата, содержащего и К и ЛК на агрегацию тромбоцитов (Тц) крови условно здоровых доноров показало, что препарат, содержащий К - 2,5 мМ и ЛК – 1,7 мМ, ингибировал агрегацию тромбоцитов, индуцированную арахидоновой кислотой (АК) на 50%. Важно отметить что водорастворимые препараты карнозина (2,5 мМ) и липоевой кислоты (1,7 мМ) никак не влияли на агрегацию Тц, обусловленную АК. Вероятно, это связано с плохой способностью проникать в клетку этих препаратов, тогда как липосомальный комбинированный препарат более легко проникает через клеточную мембрану путём её слияния с мембраной тромбоцита.

Таким образом, нами получен эффективный комплексный препарат, содержащий одновременно два антиоксиданта и проявляющий антиагрегационные свойства в отношении тромбоцитов человека.

Работа выполнена в рамках Государственного задания (№ госрегистрации АААА-А19-100390063-9).

1. Бурчинский С.Г. Ишемия головного мозга: возможности комплексной фармакологической коррекции. // Статьи института геронтологии АМН Украины, 2006, т. 14, с. 15-18.

2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: "Медицина", 2001, 328 с.

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ У БОЛЬНЫХ С ПЕРВЫМИ ЭПИЗОДАМИ ШИЗОФРЕНИИ

Free Radical Processes in Patients with the First Psychotic Episode of Schizophrenia

Щербатюк Т.Г.^{1,2,3}, Ляхова А. А.⁴, Жукова Е.С.³, Жилыева Т.В.⁴, Пятойкина А.С.⁴, Семенов И.В.⁴, Цвет А.Л.⁴, Гапеев А.Б.⁵

¹ Пушкинский государственный естественно-научный институт, г. Пушкино, РФ, ozone_stg@mail.ru

² Московский государственный областной университет, г. Мытищи, РФ, ozone_stg@mail.ru

³ Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии, г. Нижний Новгород, РФ, evgenya_plekhanova@mail.ru

⁴ Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород, РФ, bizet@inbox.ru

⁵ Пушкинский научный центр биологических исследований РАН, г. Пушкино, РФ, a_b_g@mail.ru

По данным ВОЗ в Европейском регионе психические расстройства входят в пятерку хронических неинфекционных заболеваний, которые в общей сложности являются причиной 86% всех смертей и 77% бремени болезней. Шизофрения – одно из самых распространенных психических расстройств, являющееся мультифакториальной патологией. Исследователи окислительного стресса в психиатрии и неврологии считают интенсификацию свободнорадикальных процессов основной причиной гибели нейронов, что является одним из звеньев патогенеза шизофрении [1]. В настоящее время не существует общепринятых биохимических параметров оценки окислительного статуса больных. Поэтому возникает необходимость поиска маркёров активности свободнорадикальных процессов при анализе состояния пациентов, страдающих шизофренией.

Цель работы – исследование активности процессов свободнорадикального окисления у больных с первыми эпизодами шизофрении.

В исследовании были включены 20 пациентов с первыми эпизодами шизофрении, как мужчины (26,8±5,4 лет), так и женщины (26,8±7,9 лет), находившиеся на лечении в ГБУЗ НО «Клиническая психиатрическая больница №1» Нижнего Новгорода. В группу сравнения вошли 20 условно здоровых волонтеров (мужчины 26,2±5,7 лет и женщины 29,7±10,9 лет). Для оценки окислительного статуса обследуемых определяли степень окислительной модификации белков плазмы крови по реакции карбонильных группировок с 2,4-динитрофенил-гидразином, активность перекисного окисления липидов оценивали по определению концентрации ТБК-активных продуктов в плазме крови; также измеряли активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в эритроцитах и уровень глутатиона в крови [2]. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и критерия множественного сравнения Стьюдента-Ньюмена-Кейлса при нормальном распределении данных по тесту Колмогорова-Смирнова ($p < 0,016$). Для парного сравнения групп данных использовали U-критерий Манна-Уитни ($p < 0,05$).

В результате проведенного исследования нам удалось установить, что у пациентов с первыми эпизодами шизофрении, проходивших стандартную антипсихотическую терапию, концентрация альдегид-2,4-динитрофенилгидразонов - продуктов металл-катализируемого окисления белков плазмы крови статистически значимо выше, по сравнению с условно здоровыми добровольцами. У пациентов с первыми эпизодами шизофрении отмечается усиление процессов перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует значительное повышение концентрации ТБК-активных продуктов в плазме крови, по сравнению со здоровыми волонтерами.

Установлены статистически достоверные различия в активности антиоксидантных ферментов: у больных шизофренией обнаружены сниженная активность супероксиддисмутазы и каталазы. Пациенты с первыми

проявлениями шизофрении, получавшие стандартную терапию антипсихотиками, по сравнению с условно здоровыми добровольцами имеют достоверно пониженный уровень глутатиона.

Интересно, что отдельные параметры окислительного стресса демонстрируют определенную гендерную зависимость. Так, пациенты мужского пола с первыми эпизодами шизофрении имеют пониженную концентрацию глутатиона в крови. При этом в крови женщин с первыми эпизодами шизофрении содержание глутатиона статистически не отличается от значений условно здоровых добровольцев.

Полученные результаты демонстрируют развитие угнетение активности антиоксидантной системы организма при шизофрении, а также делают перспективным использование препаратов, усиливающих синтез антиоксидантов, в качестве дополнительной терапии для коррекции окислительного стресса у больных шизофренией.

Исследование поддержано грантом РФФИ 19-015-00420 (руководитель Мазо Г.Э.).

1. Незнанов Н.Г., Залуцкая Н.М., Дубинина Е.Е., Захарченко Д.В., Щедрина Л.В., Ананьева Н.И., Ющин К.В., Кубарская Л.Г., Дагаев С.Г., Трилис Я.Г. Исследование параметров окислительного стресса при психических нарушениях в позднем возрасте (болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, депрессивное расстройство // Обозрение психиатрии и медицинской психологии, 2013, № 4, с. 31-38.

2. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000, 104 с.

NON-INVASIVE PREDICTORS OF ORAL CANCER

Eftekhari A., Hosainzadegan H., Maghsoudi Z., Hasanzadeh A., Heidari F., Hosainzadegan M.

Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran, ftekhari@ymail.com

Oral cancer is one of the most common cancers and one of the most important causes of human mortality. And because it is a silent disease and asymptomatic in the early stages is often diagnosed late. Therefore it is diagnosed when the disease is in its advanced stages. Early diagnostic methods can provide more effective treatments and increase the number of survivors of this type of cancer.

In recent years, scientists have conducted extensive studies to obtain the best and most practical diagnostic methods, and these studies continue. In the meantime, non-invasive technologies and markers, often found in body fluids such as saliva, blood and plasma, are particularly important.

Therefore, in this review article, using valid and new sources, the biomarker types are reviewed and new achievements in this field are briefly stated. The results of these studies indicate that salivary biomarkers are recognized as the best noninvasive markers because of their ease and cheapness.

1. Omar E.A. The outline of prognosis and new advances in diagnosis of oral squamous cell carcinoma (OSCC): review of the literature // Journal of Oral Oncology, 2013, vol. 2013.

2. Jernal A. et al. Cancer statistics, 2002 // CA cancer J. clin., 2002, vol. 52 (1), pp. 23-47.

3. Malik U.U., Zarina S., Pennington S.R. Oral squamous cell carcinoma: key clinical questions, biomarker discovery, and the role of proteomics // Archives of oral biology, 2016, vol. 63, pp. 53-65.

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПШЕНИЦЫ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

Study of Some Physiological and Biochemical Processes of Wheat at the Early Stages of Ontogenesis During Salinization

Абдыев В.Б.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, *vilayet.abdiyev@mail.ru*

Гравитационным, полярографическим, фотокolorиметрическим и биохимическими методами были изучены некоторые физиолого-биохимические процессы пшеницы на ранних этапах онтогенеза при засолении.

Установлено, что кинетика поглощения воды семенами пшеницы характеризуется, по меньшей мере, трехфазной кривой, каждая фаза, по-видимому, лимитируется определенным процессом. Экспоненциальный характер поглощения воды семенами подтверждает существенную роль облегченной диффузии в этом процессе, опыты показали, что соли (NaCl , Na_2SO_4) уменьшают поглощение воды, в основном, во II и III фазах набухания.

Впервые было выявлено, что во время набухания, несмотря на достаточное поглощение воды сухими семенами, в условиях высокого содержания солей (более 0,2 М) основной причиной неспособности семян к прорастанию является не недостаток воды в семенах, а специфическая токсичность действия ионов во II и III фазах набухания.

Обнаружено, что кинетическая закономерность поглощения O_2 корнями 6-ти дневных проростков пшеницы, выращенных в водной культуре и почве является аналогичной. Разница между ними заключается только в количественном отношении. Применяя кинетические подходы поглощения кислорода корнями проростков, выращенных в водной среде и почве можно обнаружить однофазовую сходную кривую. Далее нами изучено поглощение O_2 корнями растений, выращенных в почве, засоленной 0,2-0,6% NaCl и Na_2SO_4 . Как показывают полученные данные, снижение поглощения O_2 при длительных воздействиях солей обнаружены и при более низких концентрациях 0,2-0,6 % NaCl и Na_2SO_4 .

Выявлено, что восстановительная активность в корнях и стеблях проростков пшеницы при действии низких концентраций солей незначительно отличается, от контрольных. Однако, по мере повышения концентрации солевых растворов (0,2-0,6 %) NaCl и Na_2SO_4 степень восстановительной активности резко снижается. Вместе с тем, по сравнению с корнями, в стеблях растений снижение восстановительной активности при засолении несколько меньше. Эти данные позволяют предположить, что под влиянием засоления компоненты и субстраты дыхательных систем переходят в окисленное состояние, т.е. как правило отношение ox/red значительно увеличивается.

Следует отметить, что восстановительная активность корневой системы проростков пшеницы выше, чем в стеблях.

Адекватные данные были получены и при определении активности пероксидазы. Обнаружено, что активность пероксидазы в корневой системе выше, чем в стеблях проростков пшеницы.

Несколько иная картина наблюдается при изучении активности каталазы в корневой системе и в стеблях проростков пшеницы.

Установлено, что активность каталазы корневой системы проростков растений несколько ниже, чем в стеблях.

Выявлено, что при действии солей активность каталазы и пероксидазы в корневой системе и в стеблях проростков пшеницы значительно повышается, выполняя, роль защитного механизма.

АДАПТИВНОЕ ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ТЕРМОФИЛЬНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ НА ЭНЕРГЕТИКУ ЛЕЙКОЦИТОВ В НАТИВНОЙ ДОНОРСКОЙ КРОВИ В ПРИСУТСТВИИ ЦИТОСТАТИКА, ВЫЯВЛЯЕМОЕ ПО ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЗОНДА-КАТИОНА ДСМ
Adaptive Effect of Thermophilic Algae Extracts on Leukocyte Energy in Native Donor Blood in the Presence of a Cytostatic Agent, Detected by Fluorescence of a Cationic Probe DSM

Акшинцев А.А.¹, Морозова Г.И.², Козлова М.А.¹, **Баренбойм Г.М.¹**

¹ Институт водных проблем РАН, г. Москва, РФ, mblshok@mail.ru

² Российский университет дружбы народов, г. Москва, РФ, gimorozova@mail.ru

С целью поиска естественных адаптогенов, способных стабилизировать энергетический и ионный баланс клеток на фоне воздействия низких доз лекарств, часто загрязняющих воды, в данной работе проведено исследование влияния спиртовых экстрактов термофильных водорослей (ТВ) на энергетические показатели лимфоцитов и нейтрофилов в нативной донорской крови с помощью витального полихроматического флуоресцентного зонда-катиона ДСМ [1] до и после действия циклофосфамида (Ц) *in vitro*. В предыдущих исследованиях нами были оценены эффекты действия малых доз Ц в лимфоцитах, выделенных из донорской крови и окрашенных ДСМ: обнаружено снижение энергетической активности (ЭА) митохондрий и трансмембранных потенциалов (ТМП) [2].

Известно, что в силу принципа эпиморфизма реакции митохондрий подобны на разных уровнях биологической организации. В данной работе в качестве системного тест-объекта использовали образцы донорской венозной цитратной крови (ФГУ РНЦ РР) (6 доноров). В экспериментах на крови тестировали 40 % спиртовые растворы экстрактов ТВ1 или ТВ2 (в разведении 1:1000), полученные из материала ТВ из двух разных горячих источников Камчатки [3]. Отметим, что раствор экстракта ТВ2 имеет слабый зеленый оттенок (характерный для хлорофилла), а раствор ТВ1 практически бесцветный. В качестве токсической нагрузки на клетки крови использовали цитостатик Ц (0,002 мг/л); в контролях образцы крови инкубировали либо с физиологическим раствором, либо с 40% этанолом (в разведении 1:1000) при аналогичных условиях. В каждом опыте одинаковые объемы крови инкубировали с ДСМ при 37°C; концентрации ДСМ (в диапазоне 2-25 мкМ) и время инкубации крови с зондом (30 - 60 мин) выбирали в зависимости от задачи согласно [1, 2]. Исследование клеток в нативных мазках крови осуществляли на базе микроскопа-микрофлуориметра Люмам И-2 (ЛЮМО) при условиях, описанных ранее в работе [1]. Для каждого образца крови регистрировали по 200 клеток в контроле и опыте. Статистическую обработку данных проводили по Стьюденту.

Эффекты реакций лейкоцитов оценивали по интенсивности и цвету флуоресценции зонда ДСМ в митохондриях и ядрах клеток в крови на основе оригинальных методик [1,2]. В экспериментах обнаружено существенное снижение ЭА митохондрий и ТМП в клетках крови в присутствии цитостатика Ц и уменьшение пула лимфоцитов с высокоактивными митохондриями. В серии опытов установлено, что оба экстракта ТВ способны нивелировать дезэнергизирующий эффект Ц в митохондриях клеток крови. При этом ТВ1 оказывает наибольший стимулирующий эффект на лимфоциты в суточной крови, вызывая рост ЭА митохондрий, однако, снижает ТМП нейтрофилов в тех же образцах. На основе полученных данных можно заключить, что в экстракте ТВ1 есть компоненты (помимо хлорофилла) стимулирующие митохондрии лимфоцитов, способные снижать или нивелировать токсичное действие Ц в низкой концентрации. В то же время разнонаправленные эффекты экстрактов ТВ в клетках, наблюдаемые в ряде сравнительных опытов на образцах свежей и суточной крови, обусловлены исходным различием иммунных клеток по ЭА в разных образцах и фактически отражают способность клеток к адаптации в присутствии экстракта из ТВ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-17-00672).

1. Морозова Г.И., Онищенко Н.А., Оржеховская И.Г. и др. Микрофлуориметрический метод идентификации и оценки физиологического состояния лимфоцитов и нейтрофилов в цельной нативной крови с помощью флуоресцентного зонда-катиона ДСМ // Гематология и трансфузиология, 1997, т. 42, № 3, с. 43-47.

2. Морозова Г.И., Козлова М.А., Акшинцев А.А. Оценка экологической токсичности водных растворов ксенобиотиков в малых дозах на клетках донорской крови с помощью потенциал-чувствительного флуоресцентного зонда // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2019, т. 4, № 3, с. 428-433.

3. Акшинцев А.А., Баренбойм Г.М., Кириченко В.Е., Никитина В.Н., Чернягина О.А. Об адаптогенных свойствах экстрактов и индивидуальных веществ, выделенных из термофильных гидробионтов Камчатки. Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей, Петропавловск-Камчатский: Изд. «Камчат-пресс», 2014, с. 13-25.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОРСКИХ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ АРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА

Ecological Features of Marine Luminous Bacteria from the Arctic Region

Аленина К.А., Алескерова Л.Э., Исмаилов А.Д.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, anvaris@list.ru

Исследованы физиологические, биолуминесцентные и спектральные параметры светящихся бактерий, симбионтов рыб Белого, Берингова и Охотского морей.

Для всех штаммов характерна высокая скорость роста при 4°C, высокий уровень люминесцентной активности, достигающий в оптимальных условиях 10^5 квант/с·кл. Удельная люминесцентная активность не изменяется в логарифмической фазе роста бактерий, что свидетельствует об отсутствии аутоиндукции в процессе синтеза люциферазы *de novo*. Температурный оптимум свечения (15°C) характерен для психрофильных штаммов. Максимальный уровень люминесцентной активности постоянен в широком диапазоне pH 7,0-9,0. Оптимальные значения солевой зависимости свечения – 2% NaCl. При глубинном росте на комплексной среде при 15°C стабильный уровень эмиссии, не ниже 10^4 квант/с·кл, сохраняется в течении 100 часов культивирования.

Эмиссионные и ростовые параметры глубинной культуры указывают, что психрофильные фотобактерии обладают высоко сопряженной системой переноса электронов на люциферазу, что проявляется в интенсивности свечения и стабильности люминесцентного цикла. Температурные зависимости свечения изолированных клеток выделенных штаммов практически идентичны, – максимум эмиссионной активности при 15-17°C.

Длительность люминесцентного цикла при культивировании в оптимизированной жидкой среде исследуемых штаммов при 15°C более 200 часов. Превышение температурного оптимума свечения на 10°C вызывает менее чем за 1 час необратимую потерю свечения клетки. В качестве наиболее вероятной причины этого явления можно предполагать температурное разобщение системы переноса электронов на люциферазу.

Совокупность полученных результатов свидетельствует об адаптации метаболизма светящихся бактерий к низкотемпературным условиям Арктических морей. Адаптационные признаки проявляются как в ростовых, так и эмиссионных характеристиках бактерий. Существенно, что пониженные температуры среды повышают эффективность трансформации энергии биолуминесцентной системой.

В таблице 1 суммированы основные физиологические и биолуминесцентные характеристики анализируемых штаммов фотобактерий.

Таблица 1

Максимум эмиссии	478 -480нм
Температурный оптимум свечения	15-17 C
Удельная скорость роста в глубинной культуре	0,1- 0,15ч ⁻¹
Длительность люминесцентного цикла в глубинной культуре (15°C)	До 200 ч
Оптимум и диапазон pH свечения	8,5; 7,0 – 9,0
Оптимум и диапазон NaCl	2,2; 0,5 – 4,0
Максимальная удельная активность <i>in vivo</i>	10^5 квант/с·кл,
Температурный диапазон свечения	4-25°C

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ СПЕКТРАЛЬНЫЕ И ЭМИССИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ ШТАММОВ МОРСКИХ ФОТОБАКТЕРИЙ

Specific Spectral and Emission Characteristics of Low-temperature Strains of Marine Photobacteria

Алескерова Л.Э., Аленина К.А., Исмаилов А.И.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, anvaris@list.ru

Установлено, что низкотемпературные светящиеся бактерии группы *P.phosphoreum*, выделенные из рыб Белого, Берингова и Охотского морей, обладают специфическими эмиссионными и спектральными характеристиками. *In vivo* все выделенные штаммы продуцируют интенсивную биолуминесценцию (до 10^5 квант/с·кл) с максимумами свечения около 478-480 нм со слабо выраженными плечами при 500-510 и 530-540 нм. На рисунке представлен спектр биолуминесценции интактных клеток бактерий из логарифмической фазы роста.

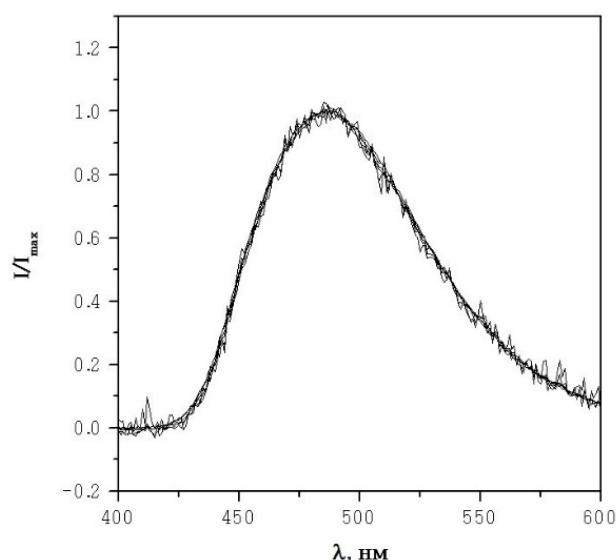


Рисунок 1. Спектр биолуминесценции изолированных клеток *P. phosphoreum* в 0,1 М Na-фосфатном буфере pH 7,5 + 2% NaCl, 4°C

Сложную картину спектра биолуминесценции можно обосновать присутствием в данных бактериях различных вспомогательных белков, которые в комплексе с люциферазой участвуют в процессе биолуминесценции. Выявлено, что эмиссионный максимум сформирован как суперпозиция двух компонентов (флавинового и люмазинового) с близкими полосами эмиссии – 495 и 476 нм, соответственно. Предположительно плечо при 530 нм может указывать на присутствие дополнительного эмиттера сходного с YFP бактерий *V. fischeri* Y-1.

Проведен анализ температурной зависимости биолуминесценции клеток при трех длинах волн, соответствующих максимумам эмиссии этих компонентов в диапазоне активации (4-20°C) и спада (22-32°C) биолуминесценции. Проведено разложение спектров при разных температурах. Суммарный спектр хорошо разлагается на 3 составляющие, соответствующие люциферазному, BFP и YFP эмиттерам.

Подтверждение наличия у *Photobacterium* бактерий вспомогательных эмиттеров косвенно вытекает из спектров флуоресценции бесклеточного экстракта и 30-80% белковой фракции из этих бактерий.

При возбуждении с длиной волны 460 нм экстракта наблюдается одна широкая полоса эмиссии с максимумом около 540 нм. Можно полагать, что основной вклад во флуоресценцию в этой области вносит свободный флавин. При возбуждении 380 нм в спектрах эмиссии проявляются два пика около 450 и 510 нм с плечом при 530 нм. Спектры возбуждения флуоресценции для эмиссии при 460 нм имеют полосы с максимумами при 350 нм и плечами при 360 и 380 нм. Для эмиссии при 530 нм спектр возбуждения имеет доминантный пик при 470 нм и дополнительный при 455 нм. Спектральная картина возбуждения и эмиссии бесклеточного экстракта указывает на наличие белков, способных быть вспомогательными эмиттерами.

Для исключения вклада свободных флуоресцентных компонентов проведен спектральный анализ на суммарной фракции белков, – 30-80% сульфат аммония. При возбуждении с длиной волны 390 нм. проявляются три полосы эмиссии с максимумами 480, 520, 580 нм. Предположительно эти флуоресцирующие компоненты могут, ассоциируясь с люциферазой, вовлекаться в эмиссионный процесс.

Таким образом, в результате проведенного спектрального и кинетического анализа получены данные, свидетельствующие, что биолуминесценция психрофильных фотобактерий *P. phosphoreum* может быть сформирована как минимум из двух эмиттеров, активность которых по-разному зависит от температуры. Предполагается, что природный цвет биолуминесценции фотобактерий может контролироваться детерминацией или люциферазы или того или иного флуоресцентного белка.

АНАЛИЗ ВОЗМОЖНЫХ ПРИЧИН ВЫСОКОЙ СМЕРТНОСТИ ОТ COVID-19 В НЕКОТОРЫХ СТРАНАХ ЕВРОПЫ

Analysis of Possible Causes of High Mortality from COVID-19 in Some European Countries

Астафурова М.В.¹, Астафуров В.И.²

¹ Высшая школа экономики, г. Москва, РФ, astafurova.maria@mail.ru

² Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены ФМБА России, г. Москва, РФ

Диапазон изменения показателя смертности от COVID-19 колеблется в странах Европы в пределах от 15-16 % (Бельгия, Франция, Италия), до 0,5-2 % (Исландия, Беларусь, Россия, Мальта, Словакия, Кипр). Причины столь большого различия показателя смертности остаются предметом дискуссии и пока не находят общепризнанного научного объяснения.

В настоящей работе представлен анализ возможного влияния различных факторов на заболеваемость и смертность от COVID-19 в странах Европы с целью найти научное объяснение высокой смертности инфицированных в Бельгии (16 %), Франции, Италии (~15 %), Великобритании, Венгрии (14 %), Нидерландах, Испании (~12 %). В качестве сравнительной группы рассмотрен ряд стран центральной и восточной Европы с показателями смертности от COVID-19 от 0,6 % (Беларусь) и 1,4 % (Россия) до ~4 % (Австрия, Литва, Польша). При анализе использованы статистические данные Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по состоянию на 20.06.2020.

В общем случае повышенная смертность от COVID-19 может быть обусловлена следующими факторами:

- медицинские факторы: низкий уровень развития медицины и гигиены; отсутствие или недостаточность необходимых медицинских препаратов, тест-систем, оборудования, специализированных мест для госпитализации инфицированных;
- управленческие факторы: запоздалое реагирование на проникновение инфекции, в частности, запоздалое введение мер изоляции инфицированных и самоизоляции населения, либо неполнота таковых мер; задержка организационных мер по обеспечению своевременной госпитализации инфицированных;
- социально-психологические факторы, характерные для населения страны;
- генетический фактор: предрасположенность населения к инфицированию коронавирусом, в сочетании с низкой иммунной защитой;
- внешние биохимические и биофизические факторы: загрязнение окружающей среды вредными химическими веществами (ВХВ) и техногенными электромагнитными излучениями и полями, воздействующими на иммунитет человека.

Уровень развития медицины и гигиены в исследуемой группе стран находится на высоком уровне и не может быть причиной повышенной смертности инфицированных. Влияние других медицинских факторов в исследуемой и сравнительной группах стран примерно одинаковое. Исключение – Италия, которая первой из стран Европы приняла пандемический удар и не успела быстро развернуть необходимое число мест для обследования и госпитализации инфицированных. Другие страны Европы учли опыт Италии, однако сравнение статистических данных смертности от COVID-19 в Бельгии, Франции, Нидерландах, Венгрии показывает, что более оперативное реагирование на пандемию не оказало принципиального влияния на показатель смертности.

Управленческие факторы, применительно к исследуемой группе стран, также можно считать не оказавшими принципиального влияния на показатель смертности от COVID-19, поскольку даже при отсутствии рекомендуемых ВОЗ карантинных мер, этот показатель в Швеции составил ~9 %, а в Белоруссии, где эти меры были приняты со значительной задержкой, показатель смертности ниже 1 %.

Что касается генетического фактора, то его влияние на смертность от коронавирусной инфекции, применительно к странам Европы, не получает научного основания.

Социально-психологические факторы способны влиять на скорость распространения инфекции, общую заболеваемость населения, уровень инфицирования отдельных возрастных групп и, как следствие, на показатель смертности. Однако сопоставление статистических данных для стран с различным национальным менталитетом (Италия – Великобритания, Нидерланды – Испания. Бельгия – Венгрия) показывает, что социально-психологические особенности населения не являются определяющим фактором.

Биохимическим фактором, способным влиять на уровень смертности от COVID-19 по причине снижения иммунитета населения, является загрязнение окружающей среды ВХВ. Однако принятие данного фактора в качестве определяющего смертность населения в странах исследуемой группы приводит к выводу, что загрязненность окружающей среды ВХВ в этих странах существенно выше, чем, например, в Чехии, Словакии, Литве, что не соответствует действительности.

Таким образом, только биофизический фактор, а именно – загрязнение окружающей среды электромагнитными излучениями и полями, воздействующими на иммунитет человека, может рассматриваться в качестве основного фактора, влияющего на заболеваемость и уровень смертности населения от COVID-19. Этот вывод согласуется с данными о тестировании и массовом развертывании в странах Европы в 2019-2020 годах коммуникационных сетей 5G, являющихся источником биологически активного миллиметрового излучения. Другим источником этого излучения является ряд военных объектов США и НАТО в странах Европы, включая коммуникационную сеть НАТО в Бельгии.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ТЕХНОГЕННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО МИЛЛИМЕТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Theoretical Bases of Biological Action of Technogenic Electromagnetic Millimeter Radiation

Астафурова М.В.¹, Астафуров В.И.²

¹ Высшая школа экономики, г. Москва, РФ, astafurova.maria@mail.ru

² Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены ФМБА России, г. Москва, РФ

В работах [1,2] показано, что, поскольку время является внешней характеристикой движения, этот физический параметр нельзя рассматривать как первичное свойство материи. Время не существует само по себе, в отрыве от движения, и его нельзя рассматривать в качестве активного действующего начала. Следовательно, существует некоторое, не являющееся временем, первичное свойство материи, которое в единстве с пространством составляет структурную основу материального континуума [3]. Это свойство, получившее условное название «электромагнитного свойства», проявляется в каждом объекте и процессе физического мира, в частности, в формах электромагнитных волн, электрического, магнитного и электромагнитного полей, электрических зарядов. Таким образом, материальный мир следует рассматривать как пространственно-электромагнитный континуум, представляющим собой совокупность взаимосвязанных волновых объектов (осцилляторов). [4,5]. Вещество и физический вакуум – взаимосвязанные формы этого континуума. Взаимодействие природных волновых объектов приводит к формированию иерархических структур. Каждой структурной иерархии соответствует определенное фундаментальное взаимодействие.

Отказ от пространственно-временной модели Минковского-Эйнштейна [6] и переход к пространственно-электромагнитной модели материального континуума [4] позволил вывести уравнения, связывающие пространственные параметры иерархических структур и соответствующих этим структурам фундаментальных взаимодействий со свойствами физического вакуума. Получено физико-математическое доказательство существования иерархии биологических структур, включающей всю совокупность живых объектов [7].

Ведущий осциллятор биологической иерархии генерирует электромагнитное излучение миллиметрового диапазона, равномерно заполняющее материальный континуум. Основная длина волны, генерируемая этим осциллятором, равна ~2 мм.

Поскольку образование и эволюция живых структур проходила и проходит в условиях постоянного воздействия природного миллиметрового излучения, следует ожидать, что взаимосвязь живых структур с этим излучением отражена в их эволюционном развитии. Как следствие, электромагнитное миллиметровое излучение и создаваемое им волновое поле должны принципиально влиять на гомеостаз живых структур. Данный вывод подтверждается экспериментально [8,9]. Накопленный опыт исследований и применения миллиметровых волн в медицине показывает, что к воздействию электромагнитного миллиметрового излучения восприимчивы ключевые системы гомеостаза человека – система крови, клетки мозга, клетки иммунной системы.

В этой связи очевидной представляется опасность расширения диапазона используемых радиочастот в телекоммуникационных системах в сторону миллиметровых волн. В частности, это касается массового развертывания систем 5G. Загрязнение окружающей среды электромагнитным излучением миллиметрового диапазона, по нашему мнению, приведет к негативным изменениям в живых системах на клеточном уровне, появлению новых видов микроорганизмов и вирусов и, как следствие, к непредсказуемым последствиям для высших форм жизни на Земле.

1. Станюкович К.П., Колесников С.М., Московкин В.М. Проблемы теории пространства, времени и материи. М.: Атомиздат, 1968. 173 с.

2. Георгиева М.И. О физической реальности пространственно-временного континуума // Труды Всероссийской астрономической конференции «ВАК-2007». Казань: Изд-во КГУ, 2007, с. 416-418.

3. Астафурова М.В. О существовании фундаментального свойства физического мира, отличного от пространства и времени // Новые идеи в философии, 2014, вып. 1 (22): в 2-х томах. Т. 2, с. 164-172.

4. Астафурова М.В., Добрецов С.Л., Астафуров В.И. Пространственно-электромагнитная модель физического вакуума и ее приложения // Забыхинские научные чтения «ЗНЧ-2014». Опул. в журн.: ФЭН-НАУКА, 2014, № 11 (38), с. 5-12.

5. Astafurova Maria. Developing Physical Axiomatics: Results and Outcomes // EPJ Web of Conferences 224, 06010, 2019. MNPS-2019. DOI: 10.1051/epjconf/201922406010.

6. Фридман А.А. Мир как пространство и время. 4-е изд. М.: Изд-во «ЛКИ», 2007, 112 с.

7. Астафурова М.В., Астафуров В.И. Физико-математическое доказательство иерархической индивидуальности живых структур // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2019, т. 4, № 4, с. 456-462.

8. Смолянская А.З., Гельвич Э.А., Голант М.Б., Махов А.М. Резонансные явления при действии электромагнитных волн миллиметрового диапазона на биологические объекты // Успехи современной биологии, 1979, № 3, с. 381-392.

9. Миллиметровые волны в медицине и биологии. М.: ИРЭ АН СССР, 1989, 307 с.

ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ И ДИНАМИКА РОСТА КУЛЬТУРЫ *CHLORELLA SOROKINIANA* ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОДЕРЖАНИИ БИОГЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Fluorescence Parameters and *Chlorella Sorokiniana* Culture Growth Dynamics at Different Content of Biogenic Substances

Беспалова С.В., Романчук С.М., Чуфицкий С.В.

Донецкий национальный университет, г. Донецк, ДНР, *ChufitskyiSergey@yandex.ru*

Динамика фитопланктона в пресноводных экосистемах обуславливается его сложными связями с другими участниками пищевой цепочки, а также с многочисленными физическими и химическими факторами [1-3]. Интенсивность нарастания численности и биомассы фитопланктона зависит от интенсивности света и наличия питательных веществ, что, в свою очередь, зависит от притока питательных веществ из вне и внутренних процессов водоема [2,3].

Флуоресценцию суспензии водорослей, а также световые кривые анализировали с помощью флуориметра Phyto-RAM (*Heinz Walz GmbH*, Германия), кривые индукции флуоресценции регистрировали с помощью флуориметра ФС-2. Подсчет числа клеток в пробах воды производили с помощью камеры Горяева под световым микроскопом.

При содержании нитратов 0, 0,75 и 1,5 г/л, достоверных отличий не наблюдалось, тогда как для культуры с полным составом питательных веществ была характерна более высокая скорость роста численности (табл. 1). Разницу наблюдали через 7 дней культивирования. При содержании фосфатов 1,25 г/л культура микроводорослей выходила на плато после 10 суток с начала эксперимента, тогда как другим культурам требовалось больше времени. При снижении содержания фосфат-ионов скорость роста численности клеток снижается. На начальном этапе исследования в течение первых 7 дней рост численности был одинаков для всех культур. При содержании нитратов 0, 0,75 и 1,5 г/л, достоверных отличий не наблюдалось. Культура, выращенная на среде Тамия с полным составом, характеризовалась наибольшей скоростью роста в сравнении с другими тест-культурами. Полное отсутствие фосфат-ионов в питательной среде приводит к снижению содержания хлорофилла в клетках микроводорослей до 20 дней культивирования. В случае полного состава питательной среды – 1,25 г/л [PO₄] наблюдали рост содержания фотопигмента в пробах воды. Кроме того, при снижении содержания фосфатов (0,7 и 0,15 г/л) также наблюдали нарастание концентрации хлорофилла, но уже с меньшей скоростью. В течение первой недели культивирования наблюдали стремительное нарастание параметра PI. Однако, в последующие промежутки времени регистрировали постепенное снижение индекса фотосинтетической производительности.

Таблица 1. Некоторые параметры культур клеток *Chlorella sorokiniana* при различном содержании нитрат- и фосфат-ионов в питательной среде

		NO ₃ , г/л				PO ₄ , г/л			
		0	0,75	1,5	2,5	0	0,15	0,7	1,25
7 сут.	N, млн. кл.	1,0±0,1	1,8±0,3	1,3±0,4	2,3±0,3	1,5±0,3	1,1±0,2	1,6±0,2	1,9±0,2
	Chl, мкг/л	57±5	54±1	70±2	119±4	86±2	47±2	71±5	106±2
	$\frac{F_v}{F_m}$, отн.ед.	0,554 ±0,010	0,538 0,007±	0,550 ±0,006	0,510 ±0,001	0,472 ±0,007	0,474 ±0,010	0,516 ±0,021	0,498 ±0,004
	PI, отн.ед.	0,55 ±0,03	0,54 ±0,04	0,56 ±0,02	0,40 ±0,02	0,49 ±0,03	0,44 ±0,01	0,39 ±0,03	0,89 ±0,03
24 сут.	N, млн. кл.	2,4±0,2	2,6±0,2	2,0±0,3	4,2±0,4	1,8±0,1	1,6±0,2	2,0±0,2	4,1±0,3
	Chl, мкг/л	110±6	95±3	98±2	204±2	96±1	103±3	134±3	172±2
	$\frac{F_v}{F_m}$, отн.ед.	0,510 ±0,001	0,508 ±0,004	0,480 ±0,005	0,460 ±0,004	0,472 ±0,004	0,478 ±0,007	0,482 ±0,010	0,494 ±0,005
	PI, отн.ед.	0,16 ±0,01	0,18 ±0,01	0,18 ±0,01	0,15 ±0,01	0,02 ±0,01	0,08 ±0,02	0,09 ±0,02	0,15 ±0,02
46 сут.	N, млн. кл.	3,4±0,2	3,7±0,3	3,8±0,2	5,8±0,4	2,1±0,2	3,3±0,3	4,2±0,4	5,7±0,4
	Chl, мкг/л	185±	194±5	204±7	367±3	19±2	220±8	249±3	291±4
	$\frac{F_v}{F_m}$, отн.ед.	0,442 ±0,004	0,428 ±0,004	0,438 ±0,004	0,388 ±0,007	0,352 ±0,010	0,392 ±0,004	0,396 ±0,005	0,420 ±0,006
	PI, отн.ед.	0,08 ±0,01	0,06 ±0,01	0,05 ±0,01	0,04 ±0,01	0,02 ±0,01	0,05 ±0,01	0,04 ±0,01	0,05 ±0,02

Низкое содержание нитрат- и фосфат-ионов способствует снижению скорости роста численности клеток микроводорослей *Chlorella sorokiniana*, снижению скорости нарастания содержания хлорофилла в исследуемых пробах, а также снижению квантового выхода флуоресценции хлорофилла.

1. Кузнецова А.В. Влияние дефицита азота на рост и состояние фотосинтетического аппарата зелёной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* // Вода, химия и экология, 2012, вып. 4, с. 68-76.

2. Суходольская И.Л., Мантурова О.В., Грюк И.Б. Фитопланктон малых рек Ровенской области (Украина) и связь его количественных показателей с содержанием биогенных веществ // Гидробиология, 2015, т. 51, № 3, с. 56-68.

3. Булгаков Н.Г., Левич А.П. Биогенные элементы в среде и фитопланктон: соотношение азота и фосфора как самостоятельный фактор регуляции структуры альгоценоза // Успехи современной биологии, 1995, т. 115, № 1, с. 13-23.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ РАСТВОРОВ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПРИ НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ БЕСКОНТАКТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ВОДУ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

The Production of Ecologically Pure Hydrogen Peroxide Solutions at Low Energy Non-contact Effects on Water and Their Application

Будник М.И.¹, Стребков Д.С.², Евстафеев А.С.¹, Апашева Л.М.³, Лобанов А.В.³, Овчаренко Е.Н.³

¹ Государственный научно-технологический центр «Наука», г. Москва, РФ, ziraf@mail.ru

² Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ, г. Москва, РФ, nauka-ds@mail.ru

³ ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семёнова, г. Москва, РФ

Известно, что пероксид водорода (перекись водорода H_2O_2) играет одну из определяющих ролей в жизнедеятельности растений [1].

Обнаружено, что концентрация пероксида водорода под Москвой за период с 1874 по 1894 гг. составила «въ дождевой водѣ 0,4-1 mgr. на 1 литръ» [2]. Для сравнения в морском дожде в районе Западной Атлантики концентрация пероксида водорода колеблется в диапазоне от 84×10^{-7} до 206×10^{-7} моль/л, или от 0,3 до 0,7 мг/л, [3], что приближается к параметрам дождевой воды под Москвой.

Однако применение растворов пероксида водорода в растениеводстве осложняется тем обстоятельством, что в настоящее время выпускаются коммерческие растворы пероксида водорода со стабилизирующими добавками, являющимися достаточно токсичными для растений, что снижает эффективность воздействия.

В связи с этим нами предложен способ и устройство для получения экологически чистых растворов пероксида водорода природной концентрации при низкоэнергетическом бесконтактном воздействии на воду для стимуляции роста и развития растений путём одновременного физического воздействия на воду некогерентным оптическим и высокочастотным электромагнитным излучением, при этом спектральный диапазон оптического излучения соответствует спектральному диапазону излучения Солнца, а частота высокочастотного электромагнитного излучения соответствует частоте, равной частоте поглощения молекулярного кислорода, растворенного в воде.

Концентрация экологически чистого раствора пероксида водорода, получаемая в устройстве, реализующем вышеуказанный способ, соответствует нижней границе, установленной в дождевой воде [2,3], при этом реактор устройства, заполненный водой, может быть выполнен из материала как с низким, так и высоким коэффициентом ослабления электромагнитного излучения. Если реактор выполнен из материала с высоким коэффициентом ослабления электромагнитного излучения, то изолированный от воды излучатель высокочастотного электромагнитного излучения устанавливается внутри реактора в воде. В случае же выполнения реактора из материала с низким коэффициентом ослабления высокочастотный электромагнитный излучатель устанавливается снаружи реактора. В наиболее экономичном варианте использования устройства электрические блоки питания и управления источников некогерентного оптического и высокочастотного электромагнитного излучения соединены через инвертор с солнечным модулем.

Полученные предлагаемым способом экологически чистые растворы пероксида водорода природной концентрации являются эффективными регуляторами роста и развития растений.

На растительных объектах показано, что применяемый пероксид в определенных концентрациях повышает всхожесть обработанных семян на 30-40%. Растения, подращиваемые на средах, содержащих растворы пероксида водорода в концентрациях, стимулирующих рост, превышают контрольные значения на 60-80% по показателям высоты, длины корня. Отмечено увеличение содержания хлорофилла на 20-30%, повышение количества связанной с клеточными структурами воды до 30% и биомассы до 35-45%.

Способ и устройство может быть использован как в мелких хозяйствах (фермерских, приусадебных участках, садово-огородных товариществах, городских огородах), так и в крупных сельскохозяйственных предприятиях, специализирующихся на выращивании различных сельскохозяйственных культур, в том числе с использованием теплиц, технологий аэро- и гидропоники, капиллярного полива, в районах с высокой солнечной радиацией, с коротким световым днём и за полярным кругом, а также в условиях длительной автономной экспедиции, включая автономное подводное плавание, полярную экспедицию и многомесячный космический полёт.

1. Комиссаров Г.Г. Фотосинтез: физико-химический подход. М.: Едиториал УРСС, 2003, 224 с.

2. Позин М.Е. Перекись водорода и перекисные соединения. Л., М.: ГХИ, 1951, с. 31.

3. Брокгауз Ф.А., Эфрон И.А. Энциклопедический словарь, статья «Перекись водорода». СПб., 1898, т. XXIII, с. 215.

4. Cooper W.J., Saltzman E.S., Zika R.G. The contribution of rainwater to variability in surface ocean hydrogen peroxide // Journal of Geophysical Research, 1987, vol. 92, p. 2970, DOI: 10.1029/JC092iC03p02970.

РАЗРАБОТКА ПОЛИДИСПЕРСНЫХ СЕЛЕН СОДЕРЖАЩИХ НАНОАГРЕГАТОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР Development of Polydispersion Selenium-containing Nano Aggregates to Increase Productivity of Agricultural Crops

Гудков С.В., Симакин А.В., Баймлер И.В., Раков И.И., Жильникова М.И., Воронов В.В., Уваров О.В.,
Бармина Е.В., Шафеев Г.А.

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва, РФ, *S_makariy@rambler.ru*

При выращивании на одном и том же месте сельскохозяйственных культур в течение длительного времени, наблюдается истощение почвы, восполнить которое естественным путем очень сложно. Причина этого процесса в следующем. В процессе роста растение потребляет из почвы необходимые ему химические элементы. При вывозе урожая с полей, поглощенные растением химические элементы не попадают обратно в почву, начинается ее истощение. Удобрения повышают в почве концентрацию одного или нескольких дефицитных химических компонентов, необходимых для нормального роста и развития растений. Другими словами, удобрения служат для питания растений и повышения плодородия почв. Считается, что из-за сложности дозирования и неравномерности внесения удобрений всегда существует риск отрицательного влияния на окружающую среду и здоровье людей. С другой стороны, за счет быстрого промывания в почву, также может уменьшаться эффективность использования удобрений. Для решения этой проблемы в данном проекте предлагается создание научных основ и технологии изготовления полидисперсных наноагрегатов содержащих селен. Для наноразмерных агрегатов легко решается проблема дозирования и равномерности внесения, также для наноразмерных агрегатов в значительной степени решается проблема промываемости в почвах, что в целом ведет к "экологичности" сельского хозяйства и увеличению его эффективности.

Наночастицы селена получены методом лазерной абляции в воде [1]. Использовались два типа лазерных источников. Первым был волоконный иттербиевый лазер со средней мощностью 20 Вт, длиной волны от 1060 до 1070 нм, частотой повторения импульсов 20 кГц и длительностью импульса 80 нс. Вторым лазерным источником был лазер на парах меди с длиной волны 510,6 и 578,2 нм со средней мощностью 8 Вт. Лазерное облучение твердой мишени Se проводилось в проточной ювенте. Скорость генерации наночастиц Se составила 2,5 мг/мин [2]. Размер генерируемых наночастиц Se определяли с помощью аналитической измерительной центрифуги DC24000, морфологию с помощью просвечивающего электронного микроскопа Carl Zeiss 200FE с помощью спектроскопии потерь энергии электронов [3]. Кристаллическая структура полученных наночастиц охарактеризована с помощью рентгеновского дифрактометра Bruker AXS P4. Полученные наночастицы контролируемо агрегировали в помощью аланин-глициновой смеси. Внесение наноагрегатов селена в почву осуществлялось в концентрациях 1-25 мкг/кг. Исходное содержание экстрагируемого селена в почве было 2-4 мкг/кг. Эксперименты проводятся в климатической камере.

В докладе будут представлены экспериментальные подробности, касающиеся технологии получения наночастиц селена с помощью лазерной абляции. Будут представлены данные о размере, морфологии, топологии поверхности, химическом составе, кристаллической структуре, оптических и ряде других физико-химических свойств наночастиц. Будут представлены основные физико-химические характеристики селен-содержащих наноагрегатов. Будут представлены данные по влиянию концентрации селена в почве на скорость развития растений редиса (*Raphanus sativus* var. *Sativus*) и рукколы (*Eruca sativa*). Будут представлены данные по влиянию концентрации селена в почве на скорость развития растений редиса (*Raphanus sativus* var. *Sativus*) и рукколы (*Eruca sativa*) при действии температурного стресса. Будут представлены подробности, касающиеся технологии дистанционной оценки площади листьев, в том числе и данные о стационарном роботе и мобильном приложении.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (МД-2128.2020.11), Российского фонда фундаментальных исследований (18-52-70012 e-Asia, 19-02-00061-a) и НИР "Физические методы в сельском хозяйстве и экологии".

1. Simakin A.V., Astashev M.E., Baimler I.V., Uvarov O.V., Voronov V.V., Vedunova M.V., Sevost'yanov M.A., Belosludtsev K.N., Gudkov S.V. The Effect of Gold Nanoparticles Concentration and Laser Fluence on the Laser-Induced Water Decomposition // Journal of Physical Chemistry B, 2019, vol. 123, pp. 1869-1880, DOI: 10.1021/acs.jpcb.8b11087.

2. Ayyyzhy K.O., Voronov V.V., Gudkov S.V., Rakov I.I., Simakin A.V., Shafееv G.A. Laser Fabrication and Fragmentation of Selenium Nanoparticles in Aqueous Media // Physics of Wave Phenomena, 2019, vol. 27, pp. 113-118, DOI: 10.3103/S1541308X19020055.

3. Chausov D.N., Kurilov A.D., Kuchero R.N., Simakin A.V., Gudkov S.V. Electro-optical performance of nematic liquid crystals doped with gold nanoparticles // Journal of Physics: Condensed Matter, 2020, DOI: 10.1088/1361-648X/ab966c.

ИЗМЕРЕНИЕ ИНДУКЦИОННЫХ КРИВЫХ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА (ОЛР) В КОРЕ ПОБЕГОВ ДЕРЕВЬЕВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЛЕСНЫХ И ПАРКОВЫХ ФИТОЦИНОЗОВ

Measurements of Chlorophyll Fluorescence Kinetics (OJIP) of Tree Bark Shoots to Diagnose the Ecological State of Forest and Park Phytocenoses

Дрозденко Т.В.², Кукарских Г.П.¹, Антал Т.К.^{1,2}, Волгушева А.А.¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

² Псковский государственный университет, г. Псков, РФ, tboichuk@mail.ru

Абиотический и антропогенный стресс отрицательно влияют на состояние деревьев в городских экосистемах и снижают продуктивность сельскохозяйственных культур. Фотосинтетические процессы обеспечивают рост растений и играют важную роль в адаптации к стрессу, а их нарушения можно выявить с помощью флуоресцентных методов задолго до видимых ухудшений. Индукционные ОЛР кривые флуоресценции позволяют получить подробную информацию о состоянии первичных процессов фотосинтеза и, соответственно, об общем функциональном состоянии растения. Обычно для оценки параметров фотосинтеза древесных насаждений проводят измерения ОЛР кривых на листьях [1]. Хлоропласты коры побегов первого года, в отличие от листьев, опадающих каждый сезон, подвергаются влиянию абиотических факторов в течение всей жизни дерева и доступны для экологического мониторинга круглый год.

В связи с этим мы разработали подходы для регистрации ОЛР кривых на коре молодых древесных побегов с помощью серийного РЕА-флуориметра (Hansatech). Измерения проводили на трех видах деревьев (береза, тополь, липа) в следующих условиях: 1) в экологически чистом районе Звенигородской биологической станции МГУ (июнь и сентябрь); 2) в экологически благоприятном районе Воробьевых гор (г. Москва) в феврале, апреле и июне; 3) вдоль магистралей г. Москвы и г. Пскова с разной антропогенной нагрузкой в июне.

Анализ результатов с помощью ЛР теста показал высокую чувствительность метода к сезонным изменениям температуры и к уровню антропогенной нагрузки. В частности, снижение температуры и неблагоприятная экологическая ситуация приводили к сходным изменениям функционального состояния фотосинтетического аппарата. Так, наблюдалось снижение эффективности первичных процессов фотосинтеза из-за уменьшения содержания активных центров ФС 2 и нарушения переноса электронов от ФС 2 в пул пластохинонов. При этом в условиях стресса пул хинонов находился в частично восстановленном состоянии, возможно, в результате увеличения хлородыхания и/или снижения скорости фиксации CO₂. Также при снижении температуры и при высоком уровне загрязненности выхлопными газами выявили уменьшение размера антенны ФС 2 и увеличение нефотохимического тушения.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант №20-64-46018).

1. Kalaji H.M., Schansker G., Ladle R.J., Goltsev V., Bosa K., Allakhverdiev S.I., Brestic M., Bussotti F., Calatayud A., Dabrowski P., Elsheery N.I., Ferroni L., Guidi L., Hogewoning S.W., Jajoo A., Misra A.N., Nebauer S.G., Pancaldi S., Penella C., Poli D., Pollastrini M., Romanowska-Duda Z.B., Rutkowska B., Serodio J., Suresh K., Szulc W., Tambussi T., Yannicari M., Zivcak M. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues // Photosynthesis Research, 2014, vol. 122, № 2, DOI: 10.1007/s11120-014-0024-6.

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛУГОВО-ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВ БЕЛОГОРСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ КРЫМ

Spectral Researches of Meadow-chnozem Soils of the Belogorsky District of the Republic of Crimea

Дубас В.В.¹, Алексахин И.В.¹, Мосунов А.А.², Якимова К.В.²

¹ Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, РФ, victoriadubas.VD@gmail.com

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Лугово-черноземные почвы приурочены к речным долинам северной части Белогорского района. Ввиду повышенного плодородия данные почвы активно эксплуатируются под сады и пашни, а их близкое положение к водным источникам предопределило расположение на них населенных пунктов. Антропогенное воздействие, оказываемое в ходе ведения сельскохозяйственной и иной деятельности значительно преобразует почвы, изменяя структуру, компонентный и химический состав на уровне почвенных горизонтов, а также миграционные и

сорбционные процессы неорганических веществ и сопутствующих им ионов металлов. Поэтому основная цель настоящей работы заключается в выявлении особенностей состава лугово-черноземных почв, вертикальной миграции и условий аккумуляции химических веществ в их пределах методами колебательной спектроскопии.

Образцами в исследованиях послужили лугово-черноземные почвы и подстилающие их горные породы в количестве 16 штук, отобранных в пределах, заложенных 4 почвенных профилей в границах Зыбинского, Мельничного, Мичуринского и Русаковского сельских поселений Белогорского района. ИК-спектральный анализ производился с помощью ИК-Фурье спектрофотометра PerkinElmer Spectrum Two. В ходе проведенной работы было выявлено, что для неорганической части исследуемых почв характерно наличие полос поглощения валентных и деформационных колебаний характерных для OH-, C-O и Si-O групп [1]. По положению каждой из полос поглощения были выявлены следующие минералы: кальцит (CaCO_3), кварц (SiO_2), вторичные глинистые минералы (монтмориллонит, каолинит, галлуазит, сапонит, различные гидрослюды). На некоторых ИК-спектрах образцов почвенного материала из гумусовых и подгумусовых горизонтов определяются полосы пропускания ($2900\text{--}2990\text{ см}^{-1}$), отвечающие C-H связям гумусовых кислот. В одном из образцов почв, отобранных в пределах Мельничного сельского поселения были обнаружены нетипичные для гумусовых кислот полосы пропускания (смещенные в более низкую область $2880\text{--}2960\text{ см}^{-1}$), что позволило предположить о наличии в составе образца соединений C-H групп характерных для полимеров, а именно для поливинилхлорида (ПВХ).

С помощью 3D сканирующего лазерного рамановского спектрометра Confotec NR500 оснащенного оптическим микроскопом NIKON Eclipse Ti-S были подтверждены данные о наличии загрязнения некоторых образцов почв микропластиком. Микропластиком принято считать частицы размером 5 мм и менее, что отразилось на его незаметности при отборе проб. В данном случае в качестве микропластика выступает ПВХ (несколько полос комбинационного рассеяния при 570 см^{-1} , $1271\text{--}1547\text{ см}^{-1}$, $1900\text{--}2075\text{ см}^{-1}$ и 2679 см^{-1}) и может наносить урон окружающим экосистемам лишь при его поглощении микроорганизмами вызывая в результате избыточного накопления различные сбои в системе функционирования организма и смерть. Однако, некоторые полимеры в результате своей деструкции способны также выделять токсические вещества (например, стирол, бисфенол А и др.) тем самым отравляя окружающее их пространство.

Вертикальная миграция неорганических соединений прослеживалась в большинстве случаев в виде твердых частиц, чья подвижность обусловлена миграцией воды. Подстилающая порода и ее состав предопределяют возможность образования различных геохимических барьеров. В двух из четырех почвенных профилей почвообразующей породой выступают твердые карбонатные породы – известняк и мергель, что обуславливает формирование щелочных барьеров, на которых аккумулируются большинство сопутствующих мигрирующим вниз частицам минералов и горных пород аниогенных химических элементов. Образование сорбционных барьеров характерно для лугово-черноземных почв, образованных на глинах различного генезиса. При этом сорбционная емкость напрямую зависит от физико-химических условий почвенной среды и минералогического состава глин. Так, в почвах, распространенных в пределах Русаковского сельского поселения возможно образование нескольких сорбционных барьеров, при этом в пределах подгумусового (В) горизонта сорбционная емкость выше, чем в почвообразующей породе. Это связано прежде всего с тем, что в первом случае глины образованы такими вторичными минералами как монтмориллонит и сапонит обладающих раздвижной кристаллической решеткой, а во втором глины представлены галлуазитом с нераздвижной структурой кристаллической решетки. Сорбционная емкость настоящих почв также выше по сравнению с аналогичными почвами, распространенными в пределах Зыбинского сельского поселения. Здесь глины образованы такими вторичными минералами как гидрослюды, характеризующиеся нераздвижной структурой кристаллической решетки и содержанием повышенного количества свободной и связанной воды.

Таким образом, основным отличием между почвенными горизонтами и профилями в целом являются подстилающие породы и их химический состав. Они оказывают непосредственное воздействие на образование процессов накопления неорганических веществ. В почвах также обнаружены два типа органических веществ: природные (гумусовые кислоты) и синтетические (ПВХ). Для всех почвенных профилей характерно образование щелочных или сорбционных геохимических барьеров.

1. Плюснина И.И. Инфракрасные спектры минералов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976, 175 с.

ВЛИЯНИЕ КРАТКОГО ПРЕБЫВАНИЯ В УСЛОВИЯХ МИКРО- И ГИПЕРГРАВИТАЦИИ НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ МЫШЕЙ

The Influence of a Short-term Exposure Under Micro- and Hypergravity Conditions on the Mice' Sperm Motility

Жданкина Ю.С., Усик М.А., Бирюков Н.С., Огнева И.В.

Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва, РФ, iozneva@yandex.ru

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, РФ

Хорошо известно, что пребывание в условиях микрогравитации оказывает влияние на различные типы соматических клеток, что проявляется в изменении скорости деления, дифференцировочного потенциала, реорганизации цитоскелета. Несколько меньше данных получено при исследовании половых клеток, в частности,

сперматозоидов. Тем не менее, механизм запуска возникающих изменений остается практически неизученным. Поэтому целью данной работы было определение влияния снижения (микро-) и увеличения (2g) силы тяжести на культивируемые сперматозоиды мыши.

Сперматозоиды выделяли из каудального эпидидимуса самцов мышей. Все процедуры с животными были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол №521 от 25 сентября 2019). Микрогравитационные условия создавали с использованием машины случайного позиционирования (группы RPM), гипергравитационные условия (группы 2g) – используя центрифугу. Культивирование проводили при температуре 37°C в течение 1, 3 и 6 часов. Для каждой временной точки были сформированы соответствующие статические (CS) и динамические контроли (CD).

Для анализа подвижности использовали видеофайлы движения сперматозоидов, полученные с помощью камеры Basler ruA1600-60uc с частотой 60 кадров/с и разрешением 2 мегапикселя (Basler AG, Germany). Определение содержания белков проводили методом вестерн-блоттинга с использованием специфичных первичных антител (к альфа- и бета-тубулину, CcT4, СКАР, цитохрому с, цитохром-с-оксидазе, АТФ-синтазе).

В группе культивирования сперматозоидов на трехмерном клиностате наблюдалось уменьшение линейной скорости движения после 6 часов в условиях гравитационной разгрузки до 34 ± 3 мкм/с, что было на 57% и 61% меньше ($p < 0,05$), чем у групп статического (CS6) и динамического контролей (CD6) (79 ± 7 мкм/с и 87 ± 3 мкм/с) соответственно. В то же время в условиях гипергравитации снижение скорости движения сперматозоидов отмечалось уже через 1 час воздействия на 42 % и 40 % ($p < 0,05$) относительно статического и динамического контролей, и сохранялось до 6 часов культивирования, таким образом, в группе 2g6 скорость составляла $51,3 \pm 2,7$ мкм/с, что было на 35% и 41% ниже ($p < 0,05$), чем у групп CS6 и CD6 (79 ± 7 мкм/с и 87 ± 3 мкм/с) соответственно. Доля подвижных сперматозоидов между группами не различалась, однако она была снижена, относительно нулевой точки контроля, где она составляла 41 ± 2 %.

Для анализа причин изменения подвижности мы предположили, что это может быть связано с изменением сопряжения окисления-фосфорилирования и, поэтому, определили содержание ключевых компонентов дыхательной цепи: цитохрома с, цитохром-с-оксидазы и АТФ-синтазы. Относительное содержание цитохрома с немного, хотя достоверно, снижалось в микро- и гипергравитационных условиях через 6 часов: в группе 0g6 – на 10% ($p < 0,05$), в группе 2g6 – на 12% ($p < 0,05$) по сравнению с группой CS6. Содержание остальных белков не отличалось от соответствующих контрольных уровней ни при пребывании в условиях моделируемой микрогравитации, ни гипергравитации.

Далее, мы предположили, что изменения могут быть связаны с изменением структуры цитоскелета жгутиков сперматозоидов и определили содержание основных компонентов тубулинового цитоскелета. Относительное содержание альфа-тубулина не отличалось между группами CS, CD, 0g, а в группе 2g через 3 часа снизилось на 11% ($p < 0,1$), через 6 часов – на 27% ($p < 0,05$). Содержание второго компонента микротрубочек – бета-тубулина в группе 0g снизилось на 13% ($p < 0,05$) через 6 часов. При этом в группе 2g достоверное снижение относительного содержания бета-тубулина отмечали уже через 1 час – на 11% ($p < 0,05$), через 3 часа – на 13% ($p < 0,05$), через 6 часов – на 23% ($p < 0,05$). Относительное содержание Cct4 не менялось между группами CS, CD, 0g и 2g; содержание Скар5 снижалось на 13% ($p < 0,1$) только в группе 2g6.

Полученные результаты позволяют предположить, что изменение подвижности стало результатом нарушения структуры цитоскелета хвоста сперматозоида.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН и программой Президиума РАН «Постгеномные технологии и перспективные решения в биомедицине».

ИЗМЕРЕНИЕ ПЛОТНОСТИ ДИАТОМОВЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

Measurement of Diatoms Density by Various Methods

Железнова С.Н., Геворгиз Р.Г.

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского» РАН, г. Севастополь, РФ, r.gevorgiz@yandex.ru

В литературе приводятся разные методы измерения плотности бентосных диатомовых водорослей: оптический и весовой, метод окисляемости биомассы и прямой подсчёт клеток [1,2,4]. Многие учёные в своих исследованиях используют разные методы измерения плотности, что приводит к трудностям при сопоставлении значений плотности одной и той же культуры в разных единицах измерения. Поэтому актуальной задачей является установить взаимосвязь между различными методами измерения плотности культур. Среди всех бентосных диатомовых водорослей можно выделить *Cylindrotheca closterium*, уникальную по биохимическим и продукционным характеристикам [3-5].

Цель данного исследования – нахождение коэффициентов перехода между различными методами измерения бентосных диатомовых водорослей на примере *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin.

Для нахождения зависимости между двумя самыми распространенными методами определения плотности культуры: подсчёта численности клеток и оценки концентрации клеток оптическим методом использовали

экстенсивную культуру и интенсивную культуру в стационарной фазе роста. Получена линейная зависимость между оптической плотностью и численностью клеток с углом наклона 0,3. Зная оптическую плотность у *C. closterium*, можно определить концентрацию клеток по уравнению: $N = 3,41 \cdot D750$, где N – численность клеток, млн кл мл⁻¹; $D750$ – оптическая плотность при длине волны 750 нм. Также существует проблема, сравнения разных единиц измерения, например, численности клеток и сухой биомассы разных видов водорослей. Метод прямого взвешивания биомассы *C. closterium* используется только при интенсивном культивировании в стационарной фазе роста. Данный метод не применим для экстенсивной культуры, не хватает чувствительности, а также для экспоненциальной фазы роста при интенсивном культивировании. Активный гидрозоль, образующийся из солей кремневой кислоты при приготовлении питательных сред для интенсивного культивирования, в экспоненциальной фазе роста при центрифугировании оседает на дно пробирки вместе с биомассой. Установлена линейная зависимость между оптической плотностью культуры и сухой биомассой с углом наклона 1,64. Зная оптическую плотность *C. closterium*, можно рассчитать сухую биомассу по уравнению: $C = 0,61 \cdot D750$, где C – сухая биомасса *C. closterium*, г л⁻¹; $D750$ – оптическая плотность при длине волны 750 нм. Необходимо подчеркнуть, что в экспоненциальной фазе роста при интенсивном культивировании невозможно использовать оптический метод оценки плотности культуры, а также прямой метод взвешивания биомассы. После мокрого сжигания биомасса водоросли полностью растворялась. При мокром сжигании проб зависимость массы выделяющегося йода прямо пропорциональна массе водорослей, установлена линейная зависимость оптической плотности раствора йода в хлороформе после мокрого сжигания биомассы от плотности культуры.

Таким образом, была показана линейная зависимость между различными методами измерения. Были найдены коэффициенты перехода между оптическим методом и численностью клеток, а также между оптическим методом и сухой биомассой. Были выявлены достоинства и недостатки разных методов измерения плотности диатомовых водорослей.

1. Affan A., Heo S.-J., Jeon Y.-J., Lee J.-B. Optimal growth conditions and antioxidative activities of *Cylindrotheca closterium* // Journal of Phycology, 2009, vol. 45, iss. 6, pp. 1405-1415, DOI: 10.1111/j.1529-8817.2009.00763.x.

2. Gao G., Wu M., Fu Q., Li X., Xu J. A two-stage model with nitrogen and silicon limitation enhances lipid productivity and biodiesel features of the marine bloom-forming diatom *Skeletonema costatum* // Bioresource Technology, 2019, vol. 289, pp. 1-9, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121717.

3. Suman K., Kiran T., Devi U. K., Sarma N. S. Culture medium optimization and lipid of *Cylindrotheca*, a lipid- and polyunsaturated fatty acid-rich pennate diatom and potential source of eicosapentaenoic acid // Botanica Marina, 2012, vol. 55, iss. 3, pp. 289-299, DOI: 10.1515/bot-2011-0076.

4. Wang S., Verma S. K., Said I. H., Thomsen L., Ullrich M. S., Kuhnert N. Changes in the fucoxanthin production and protein profiles in *Cylindrotheca closterium* in response to blue light-emitting diode light // Microbial Cell Factories, 2018, vol. 17, art. no. 110 (13 p.), DOI: 10.1186/s12934-018-0957-0.

5. Zheleznova S.N. Production characteristics of the diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin grown in an intensive culture at various nitrogen sources in the medium // Marine Biological Journal, 2019, vol. 4, № 1, pp. 33-44, DOI: 10.21072/mbj.2019.04.1.04.

БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ В РАКУРСЕ КОНЦЕПЦИИ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОЙ ХИМИИ

Biophysical Ecology from the View of the Concept of Supramolecular Chemistry

Иванова Э.А.

Уфимский институт биологии РАН, УФИЦ УИБ РАН, г. Уфа, РФ, fiona_belobor@mail.ru

Существуют различные подходы к изучению экологии. Традиционно экология рассматривается как биоэкология. Однако проблемы мирознания Природы интересуют ученых многих направлений. На эволюцию и поведение биологических систем можно смотреть с разных точек зрения. Так, классическая термодинамика устанавливает лишь направление процессов и критерии степени протекания. И мало, что говорит о механизмах. Их исследует кинетика. Эволюция создавала химические соединения, исключительная организация которых обеспечивала выполнение наиболее сложных и точных задач. В настоящее время, усовершенствуются методы конформационного анализа, позволяющие не только предсказывать, но и объяснять экспериментальные данные, находящиеся на стыке физики и биохимии, чтобы выйти на нужный уровень приближения к пониманию морфогенетических процессов онтогенетического развития организма. В частности перед физикохимиками открывается огромная космического масштаба система механизмов и взаимодействий. В свою очередь биологи, рассматривая молекулярно-генетические процессы адаптации к условиям окружающей среды просто констатируют результаты эксперимента, оставляя на рассмотрение физикохимикам механизмы супраструктурной-гетерополимерной реорганизации хроматиновой матрицы, в условиях внутреннего

равновесия систем онтогенетического развития, а также понимание адаптации фенотипической пластичности к стресс факторам окружающей среды.

Цель работы – представить интерфазную хроматиновую матрицу в виде супраструктур: Нп-нуклеоплазмы, Хр-I -непрочно, Хр-II –прочносвязанных с ядерным матриксом-ЯМ и собственно самого ЯМ; на поверхности раздела которых, происходит динамическая реорганизация ядерного протеома.

Объект исследования – яровая пшеница, перешедшая в условиях стресса в озимую. Экспериментальная фаза онтогенеза – инициация ростового морфогенеза. Весь экспериментальный объем работы проведен на патентах, разработанных в лаборатории математической и молекулярной генетики, где представлены особенности выделения клеточных ядер, их супраструктур и элюирование из последних, супермолекулярных блоков - негистоновых и гистоновых белков.

Показаны особенности распределения негистоновых (Нгб) и гистонов: Н1-лизин-богатого-линкерного; (Н2А+Н2В)-умереннолизин-богатого; (Н3+Н4)-аргинин-богатого, блоков протеома в гетерополимерных хроматиновых фибриллах в пространственно-временном периоде интерфазных ядер. На основании полученных данных, обсуждаются вопросы на уровне отдельных сайтов восприятия сигнальной и стресс-систем в условиях взаимодействия с окружающей средой.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № НИОКТР АААА-А18-118022190104-7. В работе использована приборная база Центра коллективного пользования «Агидель» УФИЦ РАН.

ЧАСТОТНО-ВРЕМЕННАЯ СТРУКТУРА КОММУНИКАТИВНЫХ СИГНАЛОВ МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ВОЛНОВОДНОГО РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЗВУКА **Frequency-time Structure of Communication Signals of Marine Mammals in the Conditions of Waveguide Sound Propagation**

Лисютин В.А., Ластовенко О.Р., Дегтяр А.Д., Кальпа В.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, vlisiutin@mail.ru

Изучение подводных звуковых ландшафтов является растущей областью исследований, востребованной с точки зрения экологии, подводной навигации, военных применений. Морские млекопитающие распространены по всем океанам и вносят значительный вклад в подводный звуковой фон.

Рассматриваются результаты анализа звуков морских млекопитающих – усатых и зубатых китов, записанные в условиях гидроакустического волновода. Данные взяты из открытых источников. Анализ осуществляется во временной и частотной области. Диапазон частот записанных звуков простирается от десятков герц до 20 кГц. Показывается, что волноводные условия, т.е. многолучевой и многомодовый характер распространения звука вносят специфические искажения в записи. Излученный сигнал и записанный не идентичны. Выявляются характерные дисперсионные искажения низкочастотных сигналов, вызванные внутримодовой и межмодовой дисперсией. Выявляются искажения высокочастотных импульсов в виде «четверок», вызванные многолучевым характером распространения. Показывается влияние морского дна на искажения сигналов.

1. Лисютин В.А., Ластовенко О.Р. Оценка влияния внутреннего и вязкого трения на дисперсию и затухание звука в неконсолидированных морских осадках // Акустический журнал, 2020, т. 66, № 4, с. 420-436. DOI: 10.31857/S0320791920040061.

2. Лисютин В.А. Обобщенная реологическая модель неконсолидированных морских осадков с внутренним трением и эффективной сжимаемостью // Морской гидрофизический журнал, 2019, т. 35, № 1, с. 85-100, DOI: 10.22449/0233-7584-2019-1-85-100.

3. Большая советская энциклопедия. М.: Советская энциклопедия. 1969-1978.

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ МЕТОДОМ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА

Investigation Characteristics of Algae by the Method of Chlorophyll *a* Fluorescence Induction

Маторин Д.Н.¹, Тодоренко Д.А.¹, Горячев С.Н.¹, Братковская Л.Б.¹, Алексеев А.А.²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, matorin@biophys.msu.ru

² Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, г. Якутск, РФ

Метод флуоресценции хлорофилла *a* используется для оценки обилия фитопланктона в различных океанологических работах [1]. На кафедре биофизики Биологического факультета МГУ разработана и

сертифицирована «Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом» (ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268-2012) [2], а также разработан целый комплекс портативных приборов, погружной и проточный флуориметры для регистрации характеристик фитопланктона [3].

Для оценки работы фотосинтетического аппарата водорослей перспективно использовать метод измерения индукционных кривых флуоресценции с высоким временным разрешением (от 10 мкс) [4]. Проведен анализ индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции микроводорослей в присутствии солей хрома и метилртути. Показано, что эти вещества ингибируют электронный транспорт на донорной части ФСII и увеличивают долю Qв-невосстанавливающих центров. В результате этого наблюдается замедление скорости восстановления пигмента РЦ ФСI- P₇₀₀. Регистрация индукционных кривых была апробирована на природном фитопланктоне в отделяемых водоемах Белого моря. Предлагается использовать параметры индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции для раннего обнаружения появления токсических веществ в водной среде.

1. Matorin D.N., Antal T.K., Ostrowska M., Rubin A.B., Ficek D., Chlorophyll fluorometry as a method for studying light absorption by photosynthetic pigments in marine algae // *Oceanologia*, 2004, vol. 46 (4), pp. 519-531.

2. Маторин Д.Н., Осипов В.А., Рубин А.Б. Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. Теоретические и практические аспекты. Учебно-методическое пособие. М.: Альтрекс, 2012, 138 с.

3. Маторин Д.Н., Рубин А.Б. Флуоресценции хлорофилла высших растений и водорослей. М.-Ижевск: Изд-во ИКИ-РХД, 2012, 256 с.

4. Antal T.K., Matorin D.N., Ilyash L.V., Volgusheva A.A., Osipov V.A., Konyuhov I.V., Krendeleva T.E., Rubin A.B. Probing of photosynthetic reactions in four phytoplanktonic algae with a PEA fluorometer // *Photosynthesis Res.*, 2009, vol. 102, pp. 67-76.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ БИМЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПОКРЫТИЙ

Spectroscopic Study of Bimetallic Nanocomposite Coatings

Мосунов А.А.¹, Евстигнеев В.П.¹, Сизова О.С.¹, Лернер М.И.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, aamosunov@sevsu.ru

² Институт физики прочности и материаловедения СО РАН

Морское биообрастание судов и гидротехнических сооружений является мировой проблемой, которая до сих пор эффективно не решена. Защита подводной части судов от морского обрастания является одной из актуальных проблем современного судоремонта. Важность этой проблемы, в основном, определяется экономическими показателями доставки грузов судами и продолжительностью эксплуатации гидротехнических сооружений.

Основной механизм защитного действия всех противообрастающих красок – выделение (выщелачивание) токсичных или репеллентных соединений, препятствующих гидробионтам-обрастателям оседать и развиваться на окрашенной поверхности. В качестве таких соединений как в зарубежных, так и отечественных красках используются соединения меди (в основном закись меди), металлоорганические соединения олова, мышьяка, кобальта, никеля, цинка, ртути, природные органические соединения, обладающие репеллентным, наркотирующим действием на личинки обрастателей и современные альтернативные безбиоцидные компоненты [1,2].

На сегодняшний день основным трендом развития мировой науки в этом направлении является разработка новых, менее токсичных, но эффективных покрытий для профилактики биологического обрастания, основанных на применении наночастиц биологически активных металлов и их оксидов.

Мы исследуем эффективность биологически активных бикомпонентных наночастиц оксидов металлов в качестве нового компонента противообрастающего состава покрытий судов и гидротехнических сооружений [3].

Для подбора и коррекции состава матрицы и изучения механизма защитного действия модельных составов в море впервые используются современные физические методы – ИК-спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния (эффект Рамана).

От коллег из Института физики прочности и материаловедения СО РАН был получен набор пластин с двумя типами покрытия (эпоксидная смола и полиметилметакрилат, разведенный в ацетоне) с различными модифицирующими наночастицами, внесенными в покрытие в различных концентрациях (FeCuO 10%, 5%, CuO 10%, 5%, ZnO 3%, 5%, FeZnO 3%, 5%). Все полученные образцы пластин с модифицированным покрытием были подвергнуты анализу методами оптической микроскопии, а также различными спектроскопическими методиками с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная структура вещества», входящего в Ресурсный центр СевГУ.

Работа выполнена при поддержке Внутреннего гранта СевГУ Биологически активные бикомпонентные наночастицы оксидов металлов как основа альтернативных композиций противообрастающих покрытий судов и гидротехнических сооружений, 47/06-31.

1. Dobretsov S., Teplitski M.B., Mirko G., Sarath C., Chaidir P.V. Inhibition of marine biofouling by bacterial quorum sensing inhibitors // Biofouling, 2011, vol. 27, pp. 893-905.
2. Lewis J.A., In: Woodhead Publishing Series in Metals and Surface Engineering, Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies, 2009.
3. Callow J., Callow M. Trends in the development of environmentally friendly fouling-resistant marine coatings // Nat. Commun., 2011, vol. 2, p. 244, DOI: 10.1038/ncomms1251.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДАМИ КОМБИНАЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ БИМЕТАЛЛИЧЕСКИМИ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗАЩИТНЫХ ПОКРЫТИЙ КОРАБЛЕЙ И ГИДРОТЕХНИЧЕСКИХ СООРУЖЕНИЙ

Study by Raman Spectroscopy of Protective Coatings of Ships and Hydraulic Structures Modified with
Bimetallic Nanoparticles

Мосунов А.А., Евстигнеев В.П., Сизова О.С., Дульчук Ю.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, aamosunov@sevsu.ru

Морское биообрастание судов и гидротехнических сооружений является мировой проблемой, которая до сих пор эффективно не решена. Коллеги из Института физики прочности и материаловедения СО РАН предложили модифицировать покрытие бикомпонентными наночастицами оксидов металла.

Для подбора и коррекции состава матрицы и изучения механизма защитного действия модельных составов в море используются современные физические методы, а именно спектроскопия комбинационного рассеяния (Раман спектроскопия).

Все полученные образцы с модифицированным покрытием изучались с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная структура вещества», входящего в Ресурсный центр СевГУ. В частности, был использован лазерный сканирующий конфокальный спектрометр Confotec NR500. С его помощью были получены микрофотографии образцов (с увеличением $\times 40$), а также микрофотографии, полученные методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. В работе использовался оптический инвертированный микроскоп Nikon Ti-S, для лазерной сканирующей конфокальной микроскопии применялся гелий-неоновый лазер с длиной волны 632,8 нм (красный) и мощностью излучения 10 мВт на выходе из лазера, модуль детектирования HR-110-2.

Детектирование спектров комбинационного рассеяния осуществлялось в следующих условиях: режим съемки – накопление, 20 повторений с задержкой 0,01 мс между сканами, продолжительность каждого скана – 1 с, полученные сканы после усреднялись. Размер пинхола – 70 нм, без ослабления мощности входного лазерного излучения. Дифракционная решетка имеет 150 штрихов на мм. К спектрам применялся фильтр «RollingBall» с размером 100 единиц.

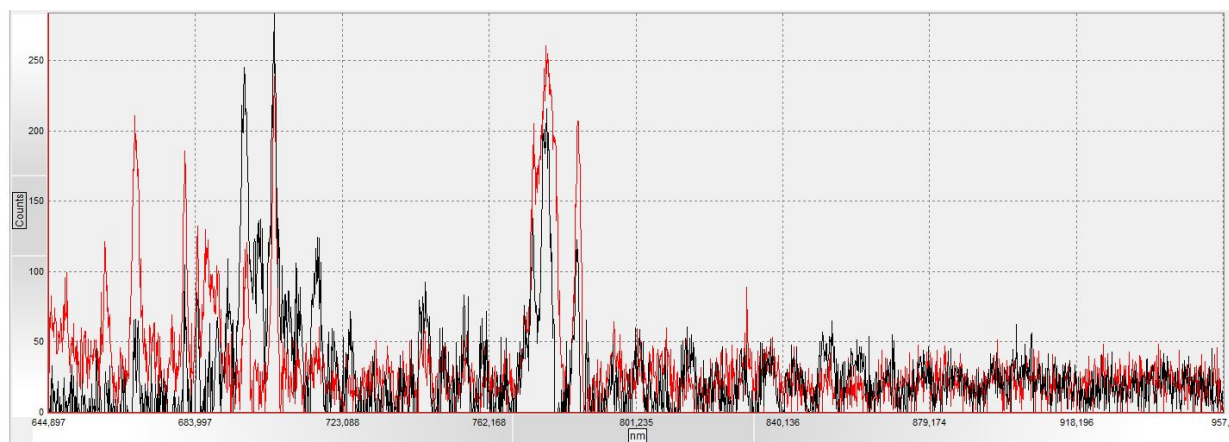


Рисунок 1. Сравнение рамановских спектров двух модифицированных покрытий: полиметилметакрилат аммония с 5% наночастиц FeZnO, 5 % наночастиц FeZnO, добавленных в эпоксидную смолу

Работа выполнена при поддержке Внутреннего гранта СевГУ Биологически активные бикомпонентные наночастицы оксидов металлов как основа альтернативных композиций противообрастающих покрытий судов и гидротехнических сооружений, 47/06-31.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДАМИ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ЗАЩИТНЫХ ПОКРЫТИЙ КОРАБЛЕЙ С БИМЕТАЛЛИЧЕСКИМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

Investigation by Methods of Infrared Spectroscopy of Protective Coatings of Ships with Bimetallic Nanoparticles

Мосунов А.А., Евстигнеев В.П., Сизова О.С., Головченко И.В., Полупан Е.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, aamosunov@sevsu.ru

Морское биообрастание судов и гидротехнических сооружений является мировой проблемой, которая до сих пор эффективно не решена. Коллеги из Института физики прочности и материаловедения СО РАН предложили модифицировать покрытие бикомпонентными наночастицами оксидов металла. Данные покрытия исследуются различными физико-химическими методами, в частности, методом Фурье инфракрасной спектроскопии.

Все полученные образцы с модифицированным покрытием изучались с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная структура вещества», входящего в Ресурсный центр СевГУ. Следует отметить, что метод ИК спектроскопии дает данные, комплиментарные методу комбинационной спектроскопии. Это может обеспечить независимое подтверждение выводов, полученных методом рамановской спектроскопии. Также необходимо обратить внимание, что имеющийся в ЦКП ИК-спектрометр имеет довольно широкий спектр регистрируемых частот.

Примеры спектров покрытия, полученных на приставке многократного нарушенного полного внутреннего отражения с элементом из селенида цинка приведены ниже. Спектр покрытия, содержащего только эпоксидную смолу, приведен на рисунке 1. Наличие интенсивной полосы при 1541 см^{-1} , и менее интенсивного набора полос при $1600\text{--}1700\text{ см}^{-1}$ относятся к колебаниям ароматического кольца олигомера [1]. Кроме того, серии полос в диапазоне $1300\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ относятся к деформационным колебаниям метильной и метиленовой групп. Колебания при $3500\text{--}3700\text{ см}^{-1}$ соответствуют колебаниям гидроксильных групп. Слабая полоса симметричных колебаний эпоксидных групп (1250 см^{-1}) перекрывается полосой симметричных колебаний связи $\text{C}=\text{O}-\text{C}$ (1255 см^{-1}) [2]. Спектр композита Эпоксидная смола – ZnO 5% (рис. 1) содержит те же полосы. Интенсивный пик эпоксидной смолы при 1541 см^{-1} сдвигается на 1506 см^{-1} в композите, что может быть обусловлено образованием водородных связей между полимерной матрицей и наночастицами. Пики $\text{Zn}-\text{O}$ наблюдаются в области $450\text{--}600\text{ см}^{-1}$, в данном спектре они не попали в исследуемую область [3].

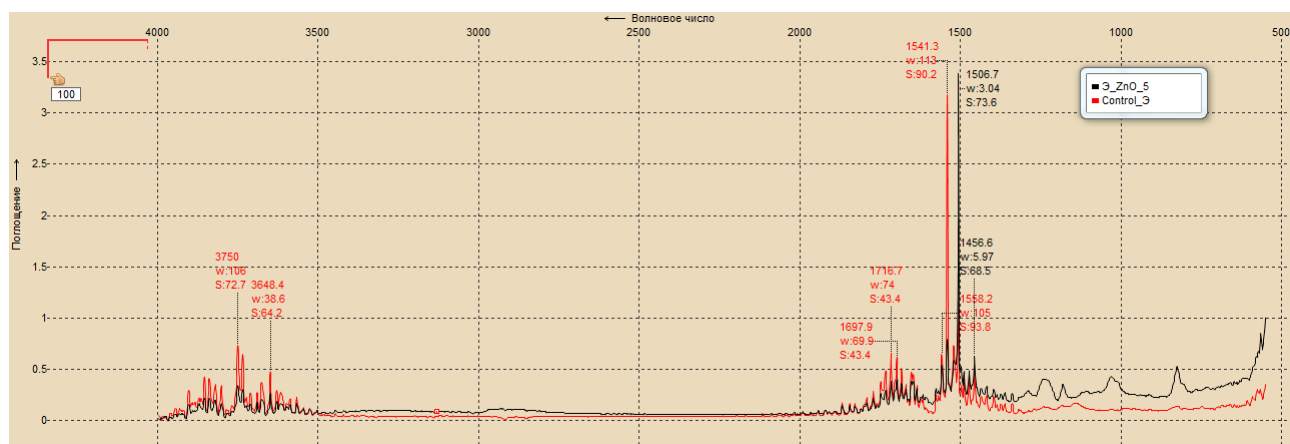


Рисунок 1. ИК-спектр эпоксидной смолы и эпоксидной смолы модифицированной наночастицами ZnO 5%

Работа выполнена при поддержке Внутреннего гранта СевГУ Биологически активные бикомпонентные наночастицы оксидов металлов как основа альтернативных композиций противообрастающих покрытий судов и гидротехнических сооружений, 47/06-31.

1. Guo J. et al. Reinforced magnetic epoxy nanocomposites with conductive polypyrrole nanocoating on nanomagnetite as a coupling agent // RSC advances, 2014, vol. 4, № 69, pp. 36560-36572.

2. Чашкин М.А. и др. ИК спектроскопическое исследование структуры эпоксидной композиции, модифицированной медь/углеродным нанокомпозитом, и процессов, связанных с ее модификацией // Химическая физика и мезоскопия, 2012, т. 14, № 2.

3. Othman N.H. et al. Highly dispersed graphene oxide–zinc oxide nanohybrids in epoxy coating with improved water barrier properties and corrosion resistance // Journal of Coatings Technology and Research, 2020, vol. 17, № 1, pp. 101-114.

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПРОЦЕССЫ ЭЛЕКТРОННОГО И ПРОТОННОГО
ТРАНСПОРТА И СИНТЕЗ АТФ В ХЛОРОПЛАСТАХ: КОМПЬЮТЕРНАЯ МОДЕЛЬ**
**Computer Modeling of Temperature Effects on Electron and Proton Transport and ATP Synthesis in
Chloroplasts**

Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, vershoubskiy@mail.ru

В работе представлены результаты теоретического исследования температурной регуляции процессов нециклического переноса электронов, трансмембранного переноса протонов и синтеза АТФ в хлоропластах высших растений в рамках расширенной компьютерной модели, построенной на основе разработанной нами ранее математической модели окислительного фотосинтеза [1-3]. Для параметризации параметров модели были использованы экспериментальные данные по кинетике фотоиндуцированных превращений фотореакционного центра P_{700} , полученные методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Проведена оценка эффективности фотосинтетической электронной транспортной цепи на основе данных по кинетике фотоиндуцированных редокс-превращений P_{700} , первичного донора электронов в фотосистеме I. Проведенное нами исследование подтверждает представление о том, что окисление пластохинола цитохромным b_6f комплексом и реакции трансмембранного переноса протонов во внутритилакоидное пространство являются основными температурно-зависимыми процессами, определяющими общий поток электронов от фотосистемы 2 к молекулярному кислороду (реакция Мелера) и синтез АТФ при варьировании температуры. Сделан вывод о том, что физическое состояние (текучесть) тилакоидной мембраны является одним из ключевых факторов, определяющих терморегуляцию световых стадий фотосинтеза в хлоропластах, обеспечивая устойчивое развитие растений при изменениях температуры окружающей среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-04-00214)

1. Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н. Электронный и протонный транспорт в хлоропластах с учетом латеральной гетерогенности тилакоидов. Математическая модель // Биофизика, 2001, т. 46, вып. 3, с. 471-481.

2. Vershubskii A.V., Kuvykin I.V., Priklonsky V.I., Tikhonov A.N. Functional and topological aspects of pH-dependent regulation of electron and proton transport in chloroplasts in silico // Biosystems, 2011, vol. 103, pp. 164-179.

3. Vershubskii A.V., Trubitsin B.V., Priklonskii V.I., Tikhonov A.N. Lateral heterogeneity of the proton potential along the thylakoid membranes of chloroplasts // Biochim. Biophys. Acta, 2017, vol. 1859, pp. 388-401.

LIGHT ACCLIMATION OF UNICELULAR RED ALGA *RHODELLA VIOLACEA*: Δ pH GRADIENT, ANTENNA REASSEMBLING AND PHOTOPROTECTION

Neverov K.V.

A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center of Biotechnology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, neverovk@mail.ru

Thylakoid membranes of red algae contain water soluble membrane-bound complexes – phycobilisomes (PBSs) serving as peripheral antennae for photosystem II (PS II). Strong light absorbed by the PBSs triggers a fast formation of transthylakoid Δ pH accompanying the non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. The Δ pH build-up seems to be essential for photoprotecting the photosynthetic apparatus in the absence of xanthophyll cycle common to higher plants. However, the mechanisms of this process are yet to be studied in detail.

We have studied the Chl fluorescence quenching in unicellular red algae *Rhodella violacea* and its correlation to the Δ pH gradient being formed. The relation of this phenomenon to PS II photoprotection in the normal and high light-acclimated rhodella cells is also examined.

The Δ pH -dependent Chl fluorescence quenching in rhodella cells appeared in 1 sec after the light was turned on and developed for 80-100 sec. Apart from that, the quenching could be induced by light flashes (1000-2000 μ E/m²s, 0,5-1 s duration). In all cases, it disappeared following 10-15 min in darkness.

Under the photoinhibitory conditions (white light of 2000-3000 μ E/m²s), the Δ pH -dependent Chl fluorescence quenching was found to delay the kinetics of PS II photoinhibition. The uncouplers like nigericin and NH₄Cl are known to break down Δ pH gradient. We have found that these compounds lead to the dissipation of Chl fluorescence quenching followed by enhancing the PS II photoinhibition rate. The ATPase inhibitor (DCCD) which has no effect on Δ pH did not affect photoinhibition kinetics. This implies the photoprotection is fulfilled by the proton gradient rather than by ATP synthesis.

We have also found that far-red light (FR, 710< λ <760 nm) efficiently eliminates the light flash-induced Chl fluorescence quenching most likely via the dissipation of transthylakoid Δ pH. This hypothesis is largely supported by FR significantly accelerating PS II photoinhibition rates in rodella suspensions.

Light exposure of rhodella cells to higher light irradiances (500-1000 μ E/m²s instead of 40 μ E/m²s) is known to make PBSs partially lose the periphery phycoerythrin-containing subunits. Here we show that the light-acclimated cultures display a higher resistance to the photoinhibitory light than the non-acclimated ones. This could be explained by diminishing the energy transfer from the reduced PBSs to PS II.

The Δ pH -dependent Chl fluorescence quenching was lower for the light-acclimated cultures as compared to the low light-grown ones. The dynamics of FR-induced Chl fluorescence recovery as well as its value were also shown to be higher for the light-adapted rhodella cells.

The presentation will address the molecular mechanisms contributing to the suppression of light-induced Chl fluorescence in rhodella cells and its recovery in darkness.

ПОДВИЖНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЛОДОВОЙ МУШКИ В ГИПОМАГНИТНЫХ И МИКРОГРАВИТАЦИОННЫХ УСЛОВИЯХ

Fruit Fly Sperm Motility Under Hypomagnetic and Microgravity Conditions

Огнева И.В.^{1,2}, Бурцева М.В.², Усик М.А.^{1,2}, Бирюков Н.С.^{1,2}, Жданкина Ю.С.^{1,2}, Орлов О.И.¹, Сычев В.Н.¹

¹ Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва, РФ, iozneva@yandex.ru

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, РФ

Поддержание фертильности при освоении дальнего космоса является необходимым условием сохранения вида. Однако влияние различных факторов космического полета за пределы магнитосферы Земли на репродуктивную функцию остается малопонятным. В данной работе мы оценивали влияние гипомагнитных и микрогравитационных условий в модельном эксперименте на подвижность сперматозоидов плодовой мушки *Drosophila melanogaster*.

Гипомагнитные условия создавали в камере путем генерации электромагнитного поля так, чтобы вектор напряженности его магнитной составляющей был коллинеарен и противоположно направлен вектору магнитного поля Земли в нашей лаборатории, при равенстве модулей векторов. Воспроизведение микрогравитационных условий проводили на машине случайного позиционирования в трехмерном пространстве (RPM). Длительность экспонирования плодовой мушки *Drosophila melanogaster* составила 1, 3 и 6 часов, затем семенные пузырьки извлекали, вскрывали и оценивали подвижность сперматозоидов. Для анализа использовали камеру Basler ruA1600-60uc с частотой 60 кадров/с и разрешением 2 мегапикселя (Basler AG, Germany). Рассчитывали основные параметры подвижности: частоту и линейную скорость движения хвоста сперматозоида.

Все экспериментальные процедуры одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол №521 от 25 сентября 2019).

Линейная скорость движения конца сперматозоида, выделенного из семенных пузырьков, через 1 и 3 часа пребывания плодовой мушки в гипомагнитных условиях (группы НМФ1 и НМФ3) не изменялась относительно таковой в группе контроля (группа С). Однако через 6 часов эта скорость уменьшалась на 60% ($p < 0,05$) по сравнению с группой С ($17,4 \pm 0,4$ мкм/с в группе НМФ6 и $43,8 \pm 1,8$ мкм/с в группе С). В то же время, резко увеличивалась частота движения конца сперматозоида – более чем в 3 раза относительно контроля ($5,5 \pm 0,7$ Гц в группе НМФ6 и $1,39 \pm 0,21$ Гц в группе С), что находит свое отражение в траектории, которую описывает конец сперматозоида. Добавление пентоксифиллина к раствору со сперматозоидами мух группы НМФ6 в разведении 1:2,5 достоверно увеличивало скорость движения (до $43,6 \pm 2,1$ мкм/с) и снижало частоту (до $1,37 \pm 0,07$ Гц) до уровня контроля.

К противоположному эффекту приводило экспонирование плодовой мушки в условиях, моделирующих микрогравитацию: через 6 часов (в группе RPM6) скорость движения увеличивалась на 34% ($p < 0,05$), а частота снижалась на 33% ($p < 0,05$), составляя $58,5 \pm 2,6$ мкм/с и $0,93 \pm 0,09$ Гц, соответственно. При этом изменений подвижности в группах RPM1 и RPM3 относительно группы С, также как и в гипомагнитных условиях, не наблюдалось.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспонирование в гипомагнитных условиях, вероятно, приводит к изменению продукции макроэргов, необходимых для движения сперматозоида, поскольку добавление пентоксифиллина эти изменения нивелирует. Можно полагать, что мишенью действия гипомагнитного поля являются заряженные частицы в клетке, в частности дыхательная цепь митохондрий. С другой стороны, в условиях моделируемой микрогравитации подвижность сперматозоидов дрозофилы возрастает, что, возможно, связано с изменением уровня фосфорилирования моторного белка динеина.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН и программой Президиума РАН «Постгеномные технологии и перспективные решения в биомедицине».

ОЦЕНКА ГЕТЕРОГЕННОСТИ РАЗМЕРА АНТЕННЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2 В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Assessment of Heterogeneity of the Photosystem 2 Antenna Size Under Stress Conditions

Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Маслаков А.С., Волгушева А.А., Дегтерева Н.С., Антал Т.К., Ризниченко Г.Ю.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, г. Москва РФ, plusn@yandex.ru

Одним из ключевых компонентов фотосинтетической электрон-транспортной цепи является фотосистема 2 – крупный трансмембранный пигмент-белковый комплекс, улавливающий солнечную энергию и восстанавливающий пластохинон до пластохинола. Для оценки активности фотосистемы 2 широко используются методы, основанные на анализе изменения интенсивности флуоресценции хлорофилла а при освещении адаптированного к темноте объекта, представляющего собой сложную многофазную кривую. Высокое временное разрешение современных РАМ-флуориметров и развитие методов анализа данных позволяет проследить динамику изменения этих фаз в процессе роста растений при действии различных факторов, в том числе и факторов стресса. Отдельные фазы нарастающего участка индукционной кривой могут соответствовать либо различным стадиям переноса электрона в электрон-транспортной цепи фотосинтеза, либо различным типам реакционных центров. Применение ингибитора электронного транспорта DCMU и измерение кривых при разных интенсивностях света позволило разделить фазы, относящиеся к разным типам реакционных центров, и фазы, указывающие на стадии переноса электрона.

В данной работе на примере культуры голодающей по сере клеток *Chlamydomonas reinhardtii* проведен анализ изменения фаз индукционных кривых несколькими методами, включающими как классический – по площади над индукционной кривой, так и с помощью разработанных нами математических моделей. Анализ показал, что в процессе голодания увеличение доли реакционных центров с антенной значительно уменьшенной по сравнению с нормой сопряжено с увеличением общего количества реакционных центров.

Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ № 20-04-00465 и РНФ № 20-64-46018.

О РАСЧЕТЕ КРИВОЙ ЭЛЕКТРОКОАГУЛЯЦИОННОЙ ОЧИСТКИ ПРИРОДНЫХ ВОД About Calculation of Electrocoagulation Curves for the Water Purification

Попова А.А., Беданов Р.А.

Майкопский государственный технологический университет, г. Майкоп, РФ, *ang.popova@gmail.com*

Электрокоагуляция в пробах природной воды происходит при снижении эффективной толщины двойного электрического слоя вследствие адсорбции потенциалопределяющих ионов из раствора на поверхности агрегата мицеллы и значительном размывании ее диффузной части [1-3].

В настоящей работе найдены новые аналитические решения кинетических уравнений процесса коагуляции в условиях поляризации в двухкомпонентных системах. Коагуляция описывается нелинейным кинетическим уравнением Смолуховского в предположении, что частицы равномерно распределены по объему и коагулирующий объем свободен от внешних воздействий:

$$\frac{\partial C(g,t)}{\partial t} = S(C,g,t) = F[C] = \frac{1}{2} \int_0^g K(g-n,n) C(g-n,t) C(n,t) dn - C(g,t) \int_0^\infty K(g,n) C(n,t) dn, \quad (1)$$

где $C(g,t)$ – спектр частиц с массой g во времени t ; $K(g,n)$ – ядро коагуляции, или частота парных столкновений частиц с массами g и n в единице объема.

Для двухкомпонентных систем в случае поляризации постоянным электрическим полем пространственно-однородного единичного объема существенный вклад в распределение частиц будут вносить диффузионные и электрохимические процессы [4,5]:

$$F[C] = F[C]_c + F[C]_d + F[C]_e, \quad (2)$$

где $F[C]_c$ – оператор изменения концентрации в результате коагуляции, $F[C]_d$ и $F[C]_e$ – операторы изменения концентрации в результате диффузии и электрохимического процесса соответственно.

Оператор $F[C]$ определяется фактором коагуляции, вызванным приростом концентрации частиц g за счет столкновения частиц g и g за вычетом коагуляционного фактора, возникающего в результате столкновения g с частицами с массой n .

Диффузионную составляющую описывали уравнением Онзагера для нестационарных процессов в многокомпонентных системах.

В рамках модели двойного электрического слоя Штерна-Грэма и уравнения Пуассона получили распределение потенциала от расстояния от границы раздела:

$$\varphi(x) = (\varphi - \varphi_s) \exp\left(-\frac{x}{l_D}\right) \quad (3)$$

Учитывая диффузионный и электрохимический факторы влияния на $F[C]$ после некоторых преобразований из (1)-(3) получаем:

$$\frac{\partial C(g,t)}{\partial t} = S(C,g,t) = F[C] = \frac{1}{2} \int_0^g K(g-n,n) C(g-n,t) C(n,t) dn - C(g,t) \int_0^\infty K(g,n) C(n,t) dn + C(n,t) \left[\int_0^\infty \int_0^\infty K(g,n) D_{gn} dndT + \int_0^\infty \int_0^\infty K(g,n) \varphi(x) dx dn \right] \quad (4)$$

Спектр частиц, полученный по уравнению (4), соответствует экспериментальной кинетической кривой коагуляции с высоким коэффициентом корреляции.

1. Попова А.А., Беданов Р.А. Кинетические закономерности электрокоагуляции при очистке природных вод в присутствии гуминовых веществ // Мат. VII Всерос. научной конф. с межд. участием «Гуминовые вещества в биосфере», Москва, 2018, с. 101-102.

2. Попова А.А., Беданов Р.А. Кинетические закономерности электрокоагуляции природных вод // Вестник Адыгейского государственного университета. Серия: Естественно-математические и технические науки, 2018, вып. 2, с. 39-46.

3. Беданов Р.А., Попова А.А. Электрокоагуляционная очистка природных вод новыми коагуляционными композициями // В книге: Актуальные проблемы современной химии, 2019, с. 270.

4. Беданов Р.А., Попова А.А. Электрокоагуляция в присутствии полиоксихлорида алюминия, модифицированного полимерными композиционными материалами // Материалы XXXVI Недели науки МГТУ XXXII Международная научно-практ. конф. «Экологические проблемы современности», Майкоп, 2018, с. 176-178.

5. Попова А.А., Беданов Р.А. Расчет кривых электрокоагуляционной очистки природных вод // В сб.: XXXVII Неделя науки МГТУ. Материалы конференций, 2019, с. 302-304.

О КИНЕТИКЕ ЭЛЕКТРОКОАГУЛЯЦИОННОЙ ОЧИСТКИ ПРИРОДНЫХ ВОД

About Kinetics of the Electrocoagulation Purification for the Natural Water

Попова А.А., Беданов Р.А.

Майкопский государственный технологический университет, г. Майкоп, РФ, ang.popova@gmail.com

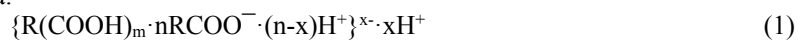
Подготовка вод поверхностных и подземных водоемов к бытовому и промышленному использованию предполагает осветление и обесцвечивание воды. Мутность природных вод связана с повышенным содержанием гуминовых веществ (ГВ). В растворах гуминовые кислоты (ГК), составляющие основу ГВ, гидролизуются с выделением значительного числа карбоксильных групп, обладающих высокой адсорбционной и реакционной способностью. Устранению ГВ способствует применение коагулянтов, осветляющее действие которых зависит от заряда, размера и формы частиц продуктов гидролиза солей и дисперсных примесей воды.

К достоинствам электрокоагуляционной очистки поверхностных вод относятся технологическая простота выполнения, возможность значительного снижения применяемых доз коагулянта и времени достижения необходимого осветляющего эффекта [1-3].

Исследование кинетики изменения оптической плотности проб природной воды (ПВ), характеризующейся наличием тонкодисперсной взвеси ГВ, показало, что оптическая плотность A исследованных неочищенных растворов незначительно уменьшается во времени до значения t_s , соответствующего структурообразованию за счет пептидных и сложнэфирных связей. По прохождении t_s оптическая плотность исследуемых систем стабилизируется. Угол наклона A, τ - зависимости близок к значению 0,01. Добавление в раствор коагулянтов на основе полиэтиленгликоля и его алкилпроизводных [4-6] в композиции с полиоксихлоридом алюминия также приводит к образованию коллоидных частиц, седиментирующих с высокой скоростью. В результате оптическая плотность резко снижается с углом наклона порядка 0,1.

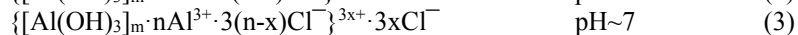
Накопление коагулянта приводит к незначительному росту A , и при $C_k > 100$ мг/л доза коагулянта не влияет на оптическую плотность системы, что характеризует окончательное формирование двойного электрического слоя коллоидных частиц в данной области концентрации коагулянта.

В результате адсорбции на твердых частицах негидролизующего гуминового вещества отрицательно заряженных карбоксильных групп различного состава, образующихся в естественных условиях при гидролизе ГК, и последующего электростатического взаимодействия с противоионами формируются коллоидные частицы, примерный состав которых отражает схема:



Электрофореграммы, полученные методом капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ), подтверждают наличие в объеме исследуемых водных проб карбоксил-ионов.

Строение коллоидных частиц ОХА можно представить схемами [1]:



Осветление воды, содержащей взвеси ГВ (схема 1), при добавлении коагулянтов ОХА (схемы 2,3) происходит, по-видимому, в результате взаимной коагуляции коллоидов, частицы которых заряжены противоположно. Об этом свидетельствует снижение ζ -потенциала частицы ГВ при добавлении коагулянта.

1. Попова А.А., Беданов Р.А. Кинетические закономерности электрокоагуляции природных вод // Вестник Адыгейского государственного университета. Серия: Естественно-математические и технические науки, 2018, вып. 2, с. 39-46.

2. Попова А.А., Беданов Р.А. Кинетические закономерности электрокоагуляции при очистке природных вод в присутствии гуминовых веществ // Мат. VII Всерос. научной конф. с межд. участием «Гуминовые вещества в биосфере», Москва, 2018, с. 101-102.

3. Беданов Р.А., Попова А.А. Электрокоагуляционная очистка природных вод новыми коагуляционными композициями // В книге: Актуальные проблемы современной химии, 2019, с. 270.

4. Способ электрохимической очистки вод бытового, питьевого и промышленного назначения Попова А.А., Беданов Р.А., Биданико Х.М. Патент на изобретение RU 2687416 C1, 13.05.2019.

5. Беданов Р.А., Попова А.А. О возможности применения электрокоагуляции в очистке природных поверхностных вод // В книге: Инновативные перспективы развития нефтепереработки и нефтехимии Международная научно-практическая конференция, посв. 110-летию академика В.С. Алиева. Баку, 2018, с. 15-16.

6. Беданов Р.А., Попова А.А. Электрокоагуляция в присутствии полиоксихлорида алюминия, модифицированного полимерными композиционными материалами // Материалы XXXVI Недели науки МГТУ XXXII Международная научно-практ. конф. «Экологические проблемы современности», Майкоп, 2018, с. 176-178.

7. Попова А.А., Беданов Р.А. Расчет кривых электрокоагуляционной очистки природных вод // В сб.: XXXVII Неделя науки МГТУ. Материалы конференций, 2019, с. 302-304.

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Assessment of the Ecological State of Coastal Waters by Biological Indicators

Скуратовская Е.Н.¹, Дорошенко Ю.В.¹, Сербин А.Д.², Полевой Д.М.³, Ковалева М.А.¹, Шевцова Ж.А.²

¹ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Малая академия наук, г. Севастополь, РФ

skuratovskaya2007@rambler.ru

В настоящее время, наряду с традиционными физико-химическими методами исследования качества прибрежных акваторий, широко применяются методы биоиндикации, отражающие реакцию гидробионтов на весь комплекс негативного влияния среды в целом. Применение этого подхода требует подбора биоиндикаторных видов и информативных биомаркеров, по которым можно оценить степень нарушения биологических функций гидробионтов в условиях многофакторного антропогенного прессинга. Для обнаружения самых ранних «сигнальных» изменений в метаболизме водных организмов используют молекулярные биомаркеры, позволяющие выявить механизмы воздействия комплекса негативных факторов среды на конкретные звенья метаболизма, определить основную стратегию и особенности структурно-функциональных изменений в организме при адаптации к неблагоприятным условиям обитания. В качестве таких биомаркеров широко используют параметры прооксидантно-антиоксидантной системы (ПАС) [1].

Живые организмы зачастую позволяют быстро оценить качество окружающей среды, в ряде случаев, с их помощью можно обнаружить микроконцентрации загрязняющих веществ. Микроорганизмы, благодаря физиологическим и генетическим особенностям, быстро реагируют на изменение качества среды и действие стрессовых факторов.

Для оценки экологического состояния прибрежных акваторий г. Севастополя использовали параметры ПАС биоиндикаторных видов – морского ерша *Scorpaena porcus* и мидии *Mytilus galloprovincialis*, а также микробиологические показатели грунтов. Исследования проводили в 4-х севастопольских бухтах с разным уровнем загрязнения летом 2019 г. (б. Ласпи, б. Казачья, б. Стрелецкая, б. Александровская). В качестве параметров ПАС анализировали активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, показатели окислительного стресса – уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков (ОМБ) в печени морского ерша и гепатопанкреасе мидии на спектрофотометре СФ-2000.

Одними из основных токсикантов для прибрежных вод города Севастополя являются нефтяные углеводороды. В связи с этим определяли численность углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) как показателей нефтяного загрязнения. Кроме того, учитывали общее количество гетеротрофов как индикаторов наличия легко доступного органического вещества [2]. Численность бактерий определяли методом предельных разведений на соответствующих селективных питательных средах. Для исследования численности общего количества гетеротрофов использовали пептонную воду, для УОМ – среду Диановой-Ворошиловой с добавлением дизельного топлива.

В результате исследований установлено повышение уровня ПОЛ и ОМБ в гепатопанкреасе мидий и печени ершей из б. Александровской и б. Стрелецкой, что свидетельствует об интенсификации процессов свободнорадикального окисления в тканях исследованных гидробионтов-индикаторов и может характеризовать экологическое состояние акваторий как менее благоприятное по сравнению с б. Ласпи и б. Казачьей. По общему количеству гетеротрофов донные осадки исследуемых бухт можно расположить в такой последовательности по уровню загрязнения: б. Ласпи, б. Казачья, б. Стрелецкая и б. Александровская. Численность бактерий в донных осадках этих акваториях составила от 2500 кл./г до 150000 кл./г. Максимальные значения численности УОМ отмечены в б. Александровской – 9500 кл./г. В б. Ласпи отмечены лишь следовые значения 1,5 кл./г.

Таким образом, сравнительный анализ исследованных биологических показателей из тестируемых акваторий г. Севастополя позволил выявить определенные отличия и характеризовать экологическое состояние б. Стрелецкая и б. Александровская как менее благоприятное по сравнению с б. Ласпи и б. Казачьей.

Работы выполнены в рамках тем Государственного задания ФИЦ ИнБЮМ № АААА-А18-118021490093-4, № АААА-А18-118020890090-2, при поддержке РФФИ и г. Севастополя в рамках научного проекта № 18-34-50005 («Наставник»).

1. Chesnokova I.I., Sigacheva T.B., Skuratovskaya E.N. Comparative Analysis of Hepatic Biomarkers of Black Scorpionfish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 from Sevastopol Water Areas (the Black Sea) with Different Pollution Levels // Water Resources, 2020, vol. 47, iss. 3, pp. 486-490.

2. Санитарно-биологические исследования прибрежных акваторий юго-западного Крыма в начале XXI века / Под ред.: О.Г. Миронова, С.В. Алёмова; Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН. Симферополь: ИТ "АРИАЛ", 2018, 276 с.

СКЕЛЕТНЫЕ МЫШЦЫ МОРСКИХ РЫБ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ УТИЛИЗАЦИИ КИСЛОРОДА

Skeletal Muscles of Marine Fish and Molecular Oxygen Utilization Systems

Солдатов А.А.^{1,2}, Парфенова И.А.³

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ, alekssoldatov@yandex.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Крымский федеральный университет, г. Симферополь, РФ

Проанализированы особенности течения метаболических процессов в 3-х типах мышечных волокон скелетных мышц морских рыб: красных, белых и розовых.

Красные мышечные волокна. Относятся к типично аэробным клеточным системам. Крайне требовательны к содержанию кислорода. В сравнении с белыми мышцами они имеют высокий тканевой уровень PO_2 . Об этом свидетельствует самая высокая плотность митохондрий и повышенная активность цитратсинтетазы. Клетки активно расходуют АТР. При высокой скорости утилизации глюкозы (по ^{14}C -глюкозе), гликогена, повышенной активности сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-редуктазы содержание АТР в красном мышечном волокне было минимально. Характерной чертой данного типа мышечных клеток является высокая скорость β -окисления жирных кислот. Активность β -гидроксиацил-СоА-дегидрогеназы у них была максимальна.

Белые мышечные волокна. Аэробные процессы в данной клеточной системе протекают менее эффективно. Напряжение кислорода снижено. Плотность митохондрий, активность цитратсинтетазы значительно уступает таковой в красных мышцах. Свидетельством анаэробной направленности метаболизма является высокая активность пируваткиназы (ПК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ). При этом утилизация углеводов клеткой протекает менее эффективно, чем в красных волокнах. Уровень АТР в белой мышечной ткани, напротив, достигает максимальных значений. Основным резервным энергетическим соединением является гликоген. Отличительной чертой белых мышечных волокон является высокий уровень клеточного белка и хорошо развитая система каналов ретикулума. Белые мышцы обладают наиболее выраженной миофибриллярной АТР-азной активностью.

Розовые мышечные волокна. Расположены между красными и белыми мышечными волокнами. По содержанию гликогена близки к красным мышцам, тогда как по активности ферментов гликолиза: ЛДГ и ПК, приближались к белым мышцам и даже превосходили их. Розовые волокна также, как и белые имели хорошо развитый ретикулум, высокую миофибриллярную Mg^{2+} - и Ca^{2+} -зависимую АТРазную активность. По уровню АТР в клетке они занимали промежуточное положение. Такой тип организации клеточного метаболизма скорее приближает их к анаэробным клеточным структурам с несколько усиленной аэробной активностью.

В сравнении с наземными позвоночными для мышц рыб характерно более высокое содержание цитохрома *a* (*aa₃*), близкие концентрации цитохрома *c* (*c₁*+*c*) и крайне низкий уровень цитохрома *b*. Подобный тип организации дыхательных цепей получил название «гипоксической цепи». Он часто встречается у организмов, сталкивающихся с дефицитом кислорода. Экспериментальная гипоксия еще более усиливает асимметрию дыхательной цепи.

В условиях острой гипоксии и аноксии в тканях активизируются анаэробные процессы, которые у рыб имеют ряд особенностей. Анаэробноз у некоторых рыб сопровождается ростом содержания этанола особенно красных мышцах. Образование данного соединения связывают с декарбоксилированием пирувата до ацетальдегида с последующим восстановлением его до этанола при участии алкогольдегидрогеназы. Это исключает чрезмерное накопление токсичного лактата. Одним из необычных следствий аноксии является индукция синтеза жиров в тканевых структурах рыб. В плазме при этом отмечается снижение уровня свободных жирных кислот. При дефиците АТР в условиях анаэробноза в клетках рыб активизируется аденилаткиназная реакция, приводящая к повышению концентрации АМР.

Усиление продукции NH_4^+ в условиях внешнего дефицита кислорода отмечено для многих гидробионтов. Показано, что гипоксия наряду с усилением анаэробного гликолиза приводит к снижению пула свободных аминокислот (особенно аспартата) и накоплению аланина и сукцината. В этом активное участие принимает малик-фермент. Рассмотренные выше процессы, позволяют клеткам рыб в условиях анаэробноза получать дополнительно к гликолитическому определенным ресурс энергии в виде молекул АТР и GTP.

Таким образом, скелетные мышцы рыб изначально ориентированы на функционирование в условиях острого дефицита кислорода. Об этом свидетельствует:

- некомпенсированный тип организации дыхательной цепи митохондрий с явным преобладанием содержания цитохромов группы *aa₃*;
- наличие эффективных ферментативных систем способных нейтрализовать образующийся при острой гипоксии и аноксии токсический лактат, переводя его в этанол, аланин, CO_2 , глюкозу, жиры;
- функционирование цикла Кребса в условиях анаэробноза, обеспечивающего дополнительный ресинтез АТР на основе углеводных и белковых субстратов, ключевым элементом которого является высоко активный малик-фермент (сукцинаттиокиназная и фумаратредуктазная реакции).

Такая направленность метаболизма клеточных систем рыб свидетельствует о том, что для данной систематической группы организмов гипоксические состояния скорее являются нормой, чем исключением.

Работа выполнена в рамках госзадания (№ гос. регистрации АААА-А18-118021490093-4) и при частичной поддержке проекта РФФИ (№ 20-44-920001).

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ РАСТВОРОВ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПРИ ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ БЕСКОНТАКТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ВОДУ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

The production of Ecologically Pure Hydrogen Peroxide Solutions at High Energy Non-contact Effects on Water and Their Application

Стребков Д.С.¹, Будник М.И.², Апашева Л.М.³, Лобанов А.В.³, Овчаренко Е.Н.³

¹ Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ, г. Москва, РФ, nauka-ds@mail.ru

² Государственный научно-технологический центр «Наука», г. Москва, РФ, ziraf@mail.ru

³ ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семёнова, г. Москва, РФ

Известно, что пероксид водорода (перекись водорода H_2O_2) играет одну из определяющих ролей в жизнедеятельности растений [1]. Впервые образование перекиси водорода при высокоэнергетическом воздействии в атмосфере было обнаружено Мейснером ещё в XIX веке, а именно: он обнаружил присутствие перекиси водорода в грозовом дожде. В том же XIX веке Шене установил, что вблизи Москвы концентрация перекиси водорода «в грозовом дожде равна 1 мг/л» [2]. В целом же под Москвой за период с 1874 по 1894 гг. обнаружено, что содержание H_2O_2 «въ дождевой водѣ 0,4-1 mgr. на 1 литръ» [3].

Для сравнения в морском дожде в районе Мексиканского залива, где имеют место частые и более сильные тропические грозы, концентрация пероксида водорода колеблется в диапазоне от 114×10^{-7} до 820×10^{-7} М, или от 0,4 до 2,8 мг/л со средним значением 402×10^{-7} М, или 1,4 мг/л [4], которое приближается к параметрам грозового дождя вблизи Москвы.

В настоящее время коммерческие растворы пероксида водорода выпускаются со стабилизирующими добавками, являющимися достаточно токсичными для растений и внутреннего медицинского применения.

В связи с этим нами предложен способ и устройство для получения экологически чистых растворов пероксида водорода при высокоэнергетическом бесконтактном воздействии на воду.

В способе получения экологически чистого раствора пероксида водорода в реакторе над поверхностью воды устанавливают электрод из электропроводящего материала, соединяют электрод с высоковольтным выводом трансформатора Тесла, подают на электрод электрическую энергию от трансформатора Тесла, создают стримеры электрического разряда между электродом, воздушной средой и поверхностью воды с образованием в воде пероксида водорода.

Концентрация экологически чистого раствора пероксида водорода, получаемая в устройстве, реализующем вышеуказанный способ, на порядки превышает природную.

Изучение рострегулирующих свойств получаемого раствора пероксида водорода проводили в модельных экспериментах в условиях стресса, когда раствор пероксида водорода был единственной без добавок средой для выращивания растений в замкнутых изолированных от окружающей среды объемах. Выращивание растений вели в стеклянных культуральных сосудах с притертыми крышками, которые для дополнительной консервации заливали парафином. В качестве тест-объекта использовали растение огурца (семейство тыквенные, сорт «Каскад»). Установлено, что экологически чистый раствор пероксида водорода с концентрацией, превышающей природную, который после разведения до природной концентрации от $8,0 \times 10^{-5}$ М, или 2,7 мг/л до $1,6 \times 10^{-5}$ М, или 0,5 мг/л, обеспечивает существенную стимуляцию роста и развития растений даже в стрессовых условиях замкнутого объема, в частности, процент растений с семядольным листом в опытных группах на 5 сутки в 2,5 раза больше, чем в контроле, а процент растений с высотой $h \leq 2$ см на 8 сутки в этих же опытных группах превышает данный показатель контрольной группы в 5 раз.

Проводилось контрольное измерение концентрации полученных слабых растворов пероксида водорода в течение месяца при условии его хранения в холодильнике при $+4^\circ\text{C}$ без каких-либо стабилизирующих добавок: концентрация при этом сохранялась без изменений, что согласуется с данными Д.И. Менделеева: «Чѣмъ слабѣе растворъ перекиси водорода въ водѣ, темъ онъ постояннѣе» [5].

Таким образом, предложен способ и устройство для получения из воды экологически чистого раствора пероксида водорода с концентрацией, на порядки превышающей природную, которая без разведения может быть использована для санитарной обработки, дезинфекции и дезинсекции, а после разведения до природной концентрации стимулирует рост и развитие растений, в том числе в стрессовых условиях изолированной среды замкнутого объема. Использование полученного экологически чистого раствора пероксида водорода возможно и в медицинской практике для внутреннего применения.

2. Позин М.Е. Перекись водорода и перекисные соединения. Л., М.: ГХИ, 1951, с. 31.
3. Брокгауз Ф.А., Эфрон И.А. Энциклопедический словарь, статья «Перекись водорода». СПб., 1898, т. XXIII, с. 215.
4. Cooper W.J., Saltzman E.S., Zika R.G. The contribution of rainwater to variability in surface ocean hydrogen peroxide // *Journal of Geophysical Research*, 1987, vol. 92, pp. 2970, DOI: 10.1029/JC092iC03p02970.
5. Менделѣев Д. Основы химии. СПб., 7-е издание, 1903, с. 152.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ КАДМИЯ И ХРОМА НА СВЕТОВЫЕ РЕАКЦИИ ФОТОСИНТЕЗА ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)

Comparative Analysis of the Effect of Cadmium and Chromium on the Light Reactions of Photosynthesis of Pea (*Pisum Sativum* L.)

Тодоренко Д.А.¹, Маторин Д.Н.¹, Антал Т.К.^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, dariatodor@mail.ru

² Псковский государственный университет, г. Псков, РФ

Воздействие кадмия (CdSO_4) и хрома (VI) ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) на световые реакции фотосинтеза листьев гороха (*Pisum sativum* L.) было изучено с помощью многофункционального анализатора эффективности растений (М-РЕА2), который позволяет подробно исследовать состояние первичных процессов фотосинтеза благодаря одновременной регистрации кинетик индукции быстрой и замедленной флуоресценции хлорофилла и кривых модулированного отражения света при 820 нм с высоким временным разрешением. Для анализа данных использовались параметры ЛП теста и параметры кривых, характеризующие функциональное состояние ФС2 и ФС1, а также межсистемный электронный транспорт [1].

Нами показано, что низкие умеренные дозы хрома (48 ч. инкубации в присутствии 20 или 50 μM) влияли, главным образом, на параметры, связанные с межсистемным электронным транспортом и ФС1, тогда как кадмий в тех же дозах оказывал воздействие, в основном, на акцепторную сторону ФС2. Высокие дозы обоих металлов (96 ч. в присутствии 50 μM) приводили к значительному снижению содержания фотохимически активных центров ФС2. Кластерный анализ полученных данных показал, что эффекты кадмия и хрома на первичные процессы фотосинтеза в листьях гороха различаются по механизмам на ранних стадиях токсического воздействия, однако, эффекты становятся сходными при высоких дозах.

Работа была поддержана фондом РФФИ (грант №20-64-46018)

1. Todorenko D., Timofeev N., Kovalenko I., Kukarskikh G., Matorin, D., Antal T. Chromium effects on photosynthetic electron transport in pea (*Pisum sativum* L.) // *Planta*, 2020, vol. 251, № 11, DOI: 10.1007/s00425-019-03304-1.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕНГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОРАСТАНИЕ И СИНТЕЗ ПИГМЕНТОВ У *RAPHANUS SATIVUS*

The Influence of X-Ray Radiation on Sprouting and Synthesis of Pigments in *Raphanus Sativus*

Трофименко Я.В., Калинкевич О.В., Чиванов В.Д., Калинкевич А.Н., Данильченко С.Н.

Институт прикладной физики НАН Украины, г. Сумы, Украина, kalinkevich@gmail.com

Одним из возможных способов улучшения посевных качеств семян является предпосевная обработка с использованием физических факторов. В нашей работе были исследованы биометрические показатели и содержание фотосинтетических пигментов в проростках редиса (*Raphanus sativus* var. *radicula*), семена которого были обработаны растворами хитозана различной концентрации в различных органических кислотах (уксусная, аскорбиновая, молочная) с добавлением комплексного удобрения и рентгеновским излучением (характеристическое излучение Mo, ускоряющее напряжение лампы 20 кВ, ток 1 мА). 0,2%-ные растворы хитозана в 1% кислотах использовали для замачивания семян, 2%-ные вязкие растворы – для формирования пленки на семенах (инкрустация). Контрольные семена обрабатывались только комплексным удобрением. Семена облучали до и после обработки. Обработанные различными способами семена высаживались в контейнеры. Фиксировалось время прорастания семян, длина ростков. Для определения содержания пигментов использовали спектрофотометрический метод [1].

Наблюдалось прорастание всех контрольных вариантов. При этом всхожесть необлученных семян составила 50%, облученных в течение 20 мин – 80%, в течение 40 мин – 20%. Семена, обработанные 0,2% и 2% растворами хитозана в 1% уксусной и молочной кислотах, не взошли вовсе. Семена, обработанные 0,2% раствором хитозана в аскорбиновой кислоте и облученные, взошли, хотя всхожесть их была ниже – 10-20%. В

тоже время в этих ростках обнаружена наибольшая концентрация фотосинтетических пигментов. Обработка семян минеральным удобрением с последующим высушиванием и облучением привела к снижению всхожести в опытных облученных вариантах – всхожесть составила 20 и 30% в зависимости от дозы (20 и 40 мин соответственно) при облучении после обработки; 30 и 40% при облучении до обработки. В контроле – 60%. Всхожесть семян, инкрустированных 2% раствором хитозана в 2% аскорбиновой кислоте, составила 50%, облученных в различных дозах – 10%.

Облучение семян в большинстве случаев приводит к снижению содержания основных фотосинтетических пигментов в проростках. Однако в случае использования минеральных удобрений и раствора хитозана в аскорбиновой кислоте в комбинации с облучением, напротив, приводит к повышению содержанию пигментов по сравнению с контролем.

1. Кудряшов А.П. Физиология растений. Лабораторный практикум. Минск: БГУ, 2011, 76 с.

АНАЛИЗ ОТВЕТА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА НА ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ СТРЕССА ПО ДАННЫМ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *a*

The Response of the Photosynthetic Apparatus to Stress Exposure Using Measurements of Chlorophyll *a* Fluorescence

Хрущев С.С., Плюснина Т.Ю., Конюхов И.В., Соловченко А.Е., Ризниченко Г.Ю.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, г. Москва РФ, styx@biophys.msu.ru

Основанные на явлении индукции флуоресценции хлорофилла *a* методы определения эффективности первичных процессов фотосинтеза широко применяются в экологическом мониторинге, агро- и биотехнологии уже несколько десятилетий. Современные автоматизированные флуориметры позволяют проводить непрерывный контроль состояния фотосинтетического аппарата (ФСА) исследуемых объектов – популяций микроводорослей или отдельных высших растений – в течение длительного времени. Это открывает широкие возможности для анализа динамики ответа ФСА на действие факторов внешней среды [1]. Поскольку состояние ФСА определяется действием комплекса многих факторов, то выявление роли отдельных факторов в наблюдаемом ответе представляет собой нетривиальную задачу.

Нами предложены новые экспериментальные протоколы, использование которых в сочетании с современными методами анализа данных позволяет более точно (по сравнению с классическим JIP-тестом) выявлять поврежденные участки электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). Так, регистрация начального (OJ) участка кинетикой кривой индукции флуоресценции при различающихся в несколько раз интенсивностях возбуждающего света позволяет разделить эффекты, связанные с изменением сечения поглощения светособирающей антенны и с эффективностью работы кислород-выделяющего комплекса. Метод спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации позволяет определить характерные времена отдельных процессов, а использование математической модели ЭТЦ даёт возможность сопоставить эти характерные времена со скоростями элементарных реакций в ФСА.

Важной с точки зрения практического применения является задача предсказания будущей динамики изменения функционального состояния ФСА по результатам мониторинга. Это позволит оценить необходимость оперативного воздействия – например, внесения удобрений или изменения светового режима при выращивании растений или микроводорослей, или изменения режима работы очистных сооружений при выявлении загрязнения речных вод, и т.п. Несмотря на существенный прогресс в понимании механизмов действия факторов среды на ФСА, далеко не все механизмы изучены на достаточном уровне. Для решения прикладных задач могут быть использованы феноменологические модели, основанные на нейросетевой архитектуре автоэнкодера с запаздыванием. Входными данными для модели являются временные ряды, содержащие данные об активности отдельных компонентов ЭТЦ, оптических свойствах исследуемых объектах, а также метеорологическую и гидрохимическую информацию.

Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ № 20-04-00465 и РНФ № 20-64-46018.

1. Plyusnina T.Yu., Khrushchev S.S., Degtereva N.S., Konyukhov I.V., Solovchenko A.E., Kouzmanova M., Goltsev V.N., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B. Gradual changes in the photosynthetic apparatus triggered by nitrogen depletion during microalgae cultivation in photobioreactor // *Photosynthetica*, 2020, vol. 58, № SI, pp. 443-451, DOI: 10.32615/ps.2020.002.

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абатурова А.М.	60	Бармина Е.В.	175
Аббаслы Р.М.	65, 74	Барышев М.Г.	48
Абдинова А.А.	61	Батайли К.П.	56
Абдыев В.Б.	167	Беданокоев Р.А.	187, 188
Авакян С.В.	95	Беликов Н.Е.	91
Агаева Г.А.	16, 17	Белкин А.В.	129
Агаева Л.Н.	61, 65	Белозерская Т.А.	32
Агаева У.Т.	16	Белослудцев К.Н.	99, 112
Агустин Серрано Р.	82	Белослудцева Н.В.	99
Аксенова Н.А.	18	Бельская Л.В.	100
Акшинцев А.А.	168	Беляева И.А.	140
Албет М.А.	21	Беляева Н.Е.	67
Александрова Н.Ш.	19	Бережнов А.В.	121
Алексашкин И.В.	176	Беспалова С.В.	173
Алексеев А.А.	180	Бикмуллин А.Г.	68
Алексеев Н.А.	124	Бирулина Ю.Г.	101, 133, 143
Аленина К.А.	169	Бирюков Н.С.	177, 185
Алескерова Л.Э.	169	Блохин Д.С.	68
Алибаева Л.Ф.	133	Богачева Е.Н.	69
Алиев Р.Э.	71	Богданова Л.Р.	22
Ананян А.А.	105	Бокарев А.Н.	133
Антал Т.К.	176, 186, 192	Бондарь В.С.	141
Антипова А.С.	52	Борулева Е.А.	152
Антипчик М.В.	96	Бочаров Э.В.	86
Антонов В.Г.	126, 127	Бочков Е.И.	102
Апашева Л.М.	42, 52, 174, 191	Бражников Е.В.	23, 56
Арзола Флорес Дж.А.	94	Братковская Л.Б.	180
Артюхов В.Г.	130, 155	Будник М.И.	174, 191
Артюшенко П.В.	62	Буйко Е.Е.	101, 133
Аскарова К.З.	63	Булычев А.А.	67
Астафуров В.И.	171, 172	Бурцева М.В.	185
Астафурова М.В.	171, 172	Бучельников А.С.	103, 131
Асташев М.Е.	20	Быстров В.С.	70, 90
Ахвердиева Г.А.	64		
Ахмедов Н.А.	61, 65, 74	Вавилов М.В.	23
Ахмедов Н.Ф.	61	Валиуллина Ю.А.	151
Ахмедова С.Р.	61	Варганова И.А.	33
Аширметов А.Х.	96	Васильев А.Л.	29
		Васильева А.Р.	160
Бабаев Э.С.	49	Васильева С.В.	113
Бабенкова И.В.	147, 148	Васильева Т.И.	140
Бабков Л.М.	66	Васильченко А.С.	139
Багрова О.Е.	20	Велиева Л.И.	71
Баймлер И.В.	175	Венская Е.И.	104
Бакланова О.В.	98	Вершубский А.В.	184
Бакурова Е.М.	97	Видадь Роблес Е.	94
Балашов Е.М.	98, 111	Внуков В.В.	105
Балобанов В.А.	128	Водясова Е.А.	29, 41
Баранова Л.А.	95	Волгушева А.А.	176, 186
Баранова О.А.	164	Воронин Д.П.	24
Барановский С.Ф.	21	Воронина Л.И.	25
Баранчиков А.Е.	122	Воронов В.В.	175
Барашкова А.С.	139	Выдрина В.А.	112
Баренбойм Г.М.	168		

Габитова И.О.....	101	Дубас В.В.....	176
Гавриш М.С.....	149	Дубинин М.В.....	99, 112
Гаджи А.В.....	34	Дубровский В.Н.....	129
Гаджиева Ш.Н.....	65	Дульчук Ю.Р.....	182
Гайсин И.А.....	160	Душанов Э.Б.....	120
Галанин В.В.....	71	Евстафеев А.С.....	174
Галль Н.Р.....	35	Евстигнеев В.П.....	181, 182, 183
Галова Е.А.....	132	Евстигнеев М.П.....	103
Ганизаде Л.....	157	Елифанов А.В.....	129
Гапеев А.Б.....	165	Ельцов О.С.....	40, 103
Гараева А.Я.....	72, 85	Ефимов А.В.....	23, 73
Гармаза Ю.М.....	106, 146	Ефимов С.В.....	118
Гасанова А.Е.....	26	Ефремов Р.Г.....	80
Геворгиз Р.Г.....	92, 178	Жданкина Ю.С.....	177, 185
Генералов Е.А.....	107	Железнова С.Н.....	178
Генералова Л.В.....	107	Желнина А.И.....	35
Глаголев Н.Н.....	18, 53	Жигачева И.В.....	113
Годжаев Н.М.....	16, 17, 64	Жильникова М.И.....	175
Голованов Е.А.....	143	Жиляева Т.В.....	165
Головко В.А.....	108	Жукова Е.С.....	165
Головченко И.В.....	183	Жулябина О.А.....	70
Горбунова С.Ю.....	55	Завьялова О.С.....	30
Гордон Р.....	56	Зажогин А.П.....	124, 136
Горовой Ю.М.....	27	Замятнин А.А.....	32
Горянова А.М.....	143	Захаров А.А.....	133
Горячев С.Н.....	180	Зиновьев С.В.....	114
Грачёв Д.И.....	109	Зубрицкая Г.П.....	117
Грехнева Е.В.....	110	Зуев Ю.Ф.....	22, 37, 38, 151
Грохлина Т.И.....	48	Зуева О.С.....	22, 38
Гуарнерос Беджарано Г.....	94	Иванов В.В.....	48, 101
Гудков С.В.....	175	Иванов В.К.....	122
Гудкова О.Е.....	159	Иванов К.Ю.....	33
Гулин А.А.....	135	Иванова М.В.....	163
Гулин А.С.....	28	Иванова Э.А.....	179
Гумматова С.Т.....	35	Ивашкевич Н.А.....	98
Гусакова В.С.....	143	Ивлиева (Перетокина) И.В.....	66
Гусакова С.В.....	101, 133, 143	Ильина Н.Б.....	128
Давыдова Н.А.....	66	Искандарова Ф.....	47, 96
Дадинова Л.А.....	29	Исмаилов А.Д.....	169
Далидчик Ф.И.....	98, 111	Исмаилов А.И.....	169
Данильченко С.Н.....	192	Исмаилова Л.И.....	65, 74
Дараван С.....	154	Ишемгулов А.Т.....	114
Дворникова А.Ф.....	30	Казаринов К.Д.....	115, 164
Дегтерева Н.С.....	186	Калинкевич А.Н.....	192
Дегтяр А.Д.....	180	Калинкевич О.В.....	192
Дегтяр И.В.....	29	Кальпа В.А.....	24, 180
Демина О.В.....	91	Камышинский Р.А.....	29
Демухамедова С.Д.....	64	Каневский М.В.....	43
Джелядин Т.Р.....	83	Каргатов А.М.....	75
Добров Е.Н.....	79	Кассим М.М.....	43
Долгов А.А.....	69		
Дорошенко Ю.В.....	189		
Дорошкевич В.С.....	97		
Дрозденко Т.В.....	176		

Касумов Р.Э.	116	Лин А.	56
Касумов Э.А.	116	Лисютин В.А.	180
Касумова И.В.	116	Лихачёв И.В.	90
Катруха Г.С.	139	Лобанов А.В.	42, 52, 152, 153, 174, 191
Клементьев К.Е.	67	Лобышев В.И.	38
Климкович Н.Н.	117	Лойко Н.Г.	88
Клочков Б.Н.	76	Лопатина О.А.	98
Клочков В.В.	118	Лукин А.В.	122
Клочкова В.С.	34	Лукин А.Ю.	91
Кобчикова П.П.	118	Лукина Г.И.	122
Ковалева М.А.	189	Лукина Н.А.	52
Ковалевский С.А.	98, 111	Лукьяненко Л.М.	104
Коваленко В.В.	88	Лукьяшин В.Е.	144
Коваленко М.Н.	124, 136	Луна Флорес А.	82, 85
Кожевников В.Н.	103	Луценко А.О.	80, 81
Козарезова Т.И.	117	Лэм Р.	56
Козлов А.П.	159	Ляхова А.А.	165
Козлова Е.К.	159		
Козлова М.А.	168	Магхсуди З.	154, 166
Козловская А.В.	108	Макарова А.О.	22, 38
Колесников М.А.	105	Маклецова М.Г.	138
Колтаков И.А.	130	Малышев В.Н.	110
Колтовая Н.А.	119, 120	Малышева И.А.	131
Кондратьев М.С.	54	Малышко Е.В.	20, 25, 142
Конюхов И.В.	193	Мальдонадо Гарсия А.	94
Корепанова Я.С.	158	Мартиросова Е.И.	52
Коржикова-Влах Е.Г.	96	Мартынов И.А.	145
Королева В.А.	155	Масимов Э.А.	123
Космачевская О.В.	120	Маслаков А.С.	186
Кочарли Н.К.	35	Маслова Г.Т.	124
Краснобаева Л.А.	77	Маторин Д.Н.	180, 192
Краснова Л.А.	160	Махмудова Ш.С.	39
Крицкая К.А.	121	Мегер Я.В.	40, 41
Кролевец И.В.	105	Медведева В.А.	163
Крупянский Ю.Ф.	87, 88	Мезенцева М.В.	98
Крутецкая З.И.	126, 127	Мельник Н.Н.	42
Крутецкая Н.И.	126, 127	Мельников И.А.	125
Кручинин И.В.	78	Мельницкая А.В.	126
Ксенофонтов А.Л.	69, 79, 84	Мендоза-Баез Р.	82
Кузнецов А.С.	80	Менухов В.О.	43
Кукарских Г.П.	176	Меркулова Н.Л.	110
Кулак А.И.	98	Миленина Л.С.	127
Кулешова Т.Э.	35	Милютин Н.П.	105
Курьянова А.С.	18	Минетти Дж.	106
Кусова А.М.	37	Минина М.В.	47
		Миранда Чикурова Н.К.	128
Лантушенко А.О.	29, 40, 41	Миронова А.Г.	102
Лапчинская О.А.	139	Митронин А.В.	137
Ластовенко О.Р.	180	Михайлина А.О.	128
Латушкин С.Т.	144	Михалева М.Г.	25
Левашова Н.Т.	72, 85	Михлина Е.В.	141
Леконцева Н.В.	128	Можаев А.А.	29
Лелеков А.С.	34, 92	Морададзе М.	157
Лернер М.И.	181	Моралес М.А.	82, 85
Летута С.Н.	114	Морозова Г.И.	63, 168

Морошкина Е.Б.	125, 161
Мосунов А.А.	176, 181, 182, 183
Мурзина Г.Б.	44
Мусаев Н.А.	39
Набережных Г.А.	128
Нагиба В.И.	33
Наговицын И.А.	152, 153
Нагорнова П.В.	129
Наквасина М.А.	130
Насыбуллина Э.И.	120
Наумов А.А.	133
Неверов К.В.	185
Нечипуренко Н.И.	136
Нечипуренко Ю.Д.	45
Никанорова Е.А.	33
Никифорова Н.Н.	47
Никиян А.Н.	114
Новиков В.В.	46
Новикова О.Д.	128
Носарев А.В.	101
Обридко В.Н.	48, 49
Овчаренко Е.Н.	174, 191
Огнева И.В.	177, 185
Оксенгендлер Б.Л.	47, 96
Ольшанникова С.С.	155
Орехов А.С.	29
Орлов И.А.	29
Орлов М.А.	83
Орлов О.И.	185
Пальмина Н.П.	52
Панкова С.М.	155
Панова Г.Г.	35
Панченко Л.А.	48
Папонов Б.В.	131
Парфенова И.А.	190
Пасюков В.В.	146
Патапович М.П.	124, 136
Паточка Г.Л.	33
Пашкевич С.Н.	114
Пашковская И.Д.	136
Пащенко В.З.	67
Перетягин П.В.	132, 145
Петрова И.В.	133
Петровская Л.Е.	91
Петухов М.В.	29, 79, 84, 86, 93
Петушков В.Н.	23
Пластун И.Л.	133
Плотников А.А.	105
Плюснина Т.Ю.	186, 193
Погорелов А.Г.	135
Погорелова В.Н.	135
Полевой Д.М.	189

Полников И.Г.	115
Полозов Р.В.	48, 54
Полупан Е.С.	183
Поляков Д.С.	96
Попов И.Н.	52
Попова А.А.	187, 188
Портнягина О.Ю.	128
Посохина Е.Д.	141
Приклонский В.И.	184
Прокопенко Т.А.	136
Прокопов А.А.	122, 137
Пятойкина А.С.	165
Рагульская М.В.	48, 49
Ракитянский Д.А.	131
Раков И.И.	175
Реут Е.	96
Ризниченко Г.Ю.	51, 60, 67, 186, 193
Рихирева Г.Т.	138
Рогожин Е.А.	139
Роденко Н.А.	140
Родина А.В.	144
Родионова Н.С.	23
Романов В.	56
Романова Е.Ю.	89
Романчук С.М.	173
Ронжин Н.О.	141
Рохас Родригез Ф.	94
Рубин А.Б.	67
Русина И.Ф.	113
Рууге Э.К.	109, 163
Рыжков И.И.	141
Савиньон Флорес Ф.	94
Савранский В.В.	42
Садыкова В.С.	139
Сажина Н.Н.	52
Сакибаев Ф.А.	155
Сало В.А.	103
Самохвалова М.С.	131
Сапрыкина Н.С.	114
Сарф Е.А.	100
Семеннов И.В.	165
Семёнов Д.А.	45
Семенова А.А.	112
Семенова Е.В.	142
Семенова М.Г.	52
Сёмочкина Ю.П.	144
Сербин А.Д.	189
Сервантес Тавера А.М.	82, 85
Сергеев А.А.	128
Сергеев В.Г.	157
Сергейчев К.Ф.	52
Сергунова В.А.	159
Серов Д.А.	20

Сеферли Г.Р.	17	Туровская М.В.	149, 150
Сидорин Е.В.	128	Туровский Е.А.	149, 150
Сидорова А.Э.	72, 80, 81, 85	Уваров О.В.	175
Сизова О.С.	181, 182, 183	Уварова Л.А.	89
Симакин А.В.	175	Удалова О.Р.	35
Симоненко Е.Ю.	102	Умнов А.М.	63
Симуний М.М.	141	Уразгильдеева Г.Р.	138
Синицына Е.С.	96	Усик М.А.	177, 185
Ситницкий А.Э.	37	Файзуллин Д.А.	151
Скоробогатова А.С.	104	Федин А.И.	164
Скурат Е.В.	79	Федорова Т.Н.	164
Скуратовская Е.Н.	189	Федотова Е.И.	121
Слепушкина Е.А.	30	Филиппов С.В.	70, 90
Слобожанина Е.И.	117, 146	Хайруллина И.А.	152, 153
Смаглий Л.В.	101, 133, 143	Харанжевский Е.В.	157
Смирнова О.Д.	144	Хасанзаде А.	154, 166
Соларес Э.	85	Хейдари Ф.	154, 166
Солдатов А.А.	190	Хечинашвили Н.Н.	54
Соловченко А.Е.	193	Ходонов А.А.	91
Соловьева А.Б.	18, 53	Ходько А.Т.	156
Соловьева А.Г.	132, 145	Холявка М.Г.	155
Соловьева Э.Ю.	164	Хорошавина Е.И.	112
Сорокин А.А.	83	Хосейнзадеган М.	154, 157, 166
Сорокоумова Г.М.	164	Хосейнзадеган Х.	154, 157, 166
Сошинская Е.Ю.	29, 86	Храпункова Г.Г.	132
Спиридонова А.А.	125	Хрущев С.С.	186, 193
Старинец В.С.	99	Цвет А.Л.	165
Стволинский С.Л.	164	Чеканов А.В.	115, 164
Степанова А.Е.	112	Чекушкин А.А.	92
Степанова Т.А.	135	Челебиева Э.С.	29
Стребков Д.С.	174, 191	Черенков И.А.	157
Суворов О.А.	135	Черепанов И.С.	158
Сырицкий В.	96	Черныш А.М.	159
Сычев В.Н.	185	Чернышев Д.Н.	21, 28, 55
Таланов Е.Ю.	99	Чесноков Ю.М.	29
Тамашевский А.В.	146	Чиана А.	106
Тарасова Н.П.	131	Чибисов Е.Е.	143
Твердислов В.А.	20, 70, 85, 142	Чиванов В.Д.	192
Текуцкая Е.Е.	48	Чиргадзе Н.Ю.	56
Теньков К.С.	112	Чиргадзе Ю.Н.	56
Терешкин Э.В.	87, 88	Чистюлин Д.К.	128
Терешкина К.Б.	87, 88	Чудинова Г.К.	152, 153
Теселкин Ю.О.	147, 148	Чуйкова С.В.	110
Тилинин М.С.	131	Чукова Ю.П.	57
Тимашев П.С.	18	Чуличков А.Л.	88
Тимашев С.Ф.	53	Чупин В.В.	91
Титов С.В.	115	Чуфицкий С.В.	173
Титова А.В.	124	Шаев И.А.	46
Тихонов А.Н.	184	Шаймарданова Г.Ф.	160
Тодоренко Д.А.	180, 192		
Топунов А.Ф.	120		
Тренкеншу Р.П.	28		
Трофименко Я.В.	192		
Тураева Н.Н.	47		

Шалабодов А.Д.	129
Шарапов В.А.	112
Шастина Н.С.	164
Шафеев Г.А.	175
Шахбазова Г.М.	123
Шевцова Ж.А.	189
Шерстюкова Е.А.	159
Шеховцов Н.В.	161
Шехтер А.Б.	53
Шлихт А.Г.	162
Шпигун Д.К.	80, 81
Штыкова Э.В.	29, 79, 84, 86, 93
Шумаев К.Б.	109, 120, 163
Щелконогов В.А.	164
Щербатюк Т.Г.	165

Щугорева И.А.	62
Эрнандез Сантьяго А.А.	82, 85, 94
Эрнандес Агирре Дж.А.	94
Эфтехари А.	154, 157
Яблокова Е.В.	46
Якименко Д.Д.	131
Якимова К.В.	176
Яковенко Л.В.	78
Яковенко С.А.	102
Яковлева Ю.А.	40, 103
Якушевич Л.В.	77
Яхно В.Г.	58
Яхно Т.А.	58