

**Московский государственный университет
им. М.В.Ломоносова**

Студенческий союз МГУ

Биологический факультет



**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ XIII МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
СТУДЕНТОВ, АСПИРАНТОВ И МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
«ЛОМОНОСОВ-2006»**

12–15 апреля 2006 г.

Секция Биология

Москва – 2006

УДК 57

Председатель оргкомитета секции «Биология»

Проф. Гостимский С.А.

Члены оргкомитета:

С.н.с. Ботвинко И.В.
Проф. Максимов Г.В.
Доц. Медведева М.В.
Проф. Соколов Д.Д.
Проф. Онищенко Г.Е.
С.н.с. Авилова К.В.
Ст. преп. Сергеев И.Ю.
Доц. Харитонашвили Е.В.
Доц. Белякова Г.А.
С.н.с. Зотов В.А.
Доц. Асеев В.В.
В.н.с. Еланская И.В.
Проф. Гиляров А.М.
Зав. лаб. Тимофеева Н.О.

Студенты и аспиранты:

Прокопенко А.В.
Безменов Н.Н.
Подстрешная Ю.С.
Синюшин А.А.
Коновалов Ф.А.
Тележкина А.
Алексеева Н.

Оргкомитет благодарит **Тимофеева К.Н.** и **Ермакова И.П.** за помощь в проведении конференции и издании настоящего сборника.

Тезисы докладов XIII международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2006», секция «Биология» (12-15 апреля, г. Москва). М.: МГУ, биологический факультет

Составление и верстка: **Коновалов Ф.А.**

© Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, 2006

**Влияние меди и ВНТ на антиокислительную систему побегов
Triticum aestivum L.**

Абдуллина Олеся Анатольевна

аспирант

Федяев Вадим Валентинович

старший преподаватель, к. б. н.

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

E-mail: fvadimv@yahoo.com

Медь - необходимый растениям микроэлемент, токсичный в высоких концентрациях. Одним из повреждающих факторов, проявляющимся при избытке Cu, является образование сверхоптимального количества активных форм кислорода (АФК). Применение синтетического антиоксиданта бутилгидрокситолуола (ВНТ) в ряде случаев оказывает положительное влияние на водоросли в условиях загрязнения Cu. Тем не менее, имеются сообщения о проявлении ВНТ прооксидантных свойств.

Нами определено состояние 10-суточных побегов *T. aestivum* (сорт Симбирка) при избытке Cu (0.07 мМ), в присутствии ВНТ (0.113 мМ) и при их совместном воздействии.

Сухая масса побегов под влиянием Cu снижалась в 1.3 раза. Содержание перекиси водорода (H₂O₂) возрастало с 2.2 до 3.9 мкМ/г. Накопление продукта перекисного окисления липидов - малонового диальдегида (МДА) увеличивалось с 2.01 до 6.97 нМ/г. Содержание хлорофиллов (Хл) *a* и *b* снижалось в среднем в 1.15 раза. Т. о. ухудшение состояния побегов *T. aestivum* в присутствии Cu сопровождалось усилением окислительных процессов. Под влиянием Cu происходило изменение параметров системы ферментных (каталаза (Cat), гваяколпероксидаза (GPX)) и низкомолекулярных (антоцианины, пролин) антиокислителей. Активность Cat снижалась в 1.2 раза. Напротив, активность GPX в 1.6 раза. Содержание антоцианинов возросло в 1.2 раза. Наиболее значительно возрастала концентрация пролина - в 2.18 раза.

ВНТ негативно влиял на состояние побегов, снижая накопление сухой массы в 1.14 раза по сравнению с контролем. Уровень H₂O₂ возрастал в 1.5 раза, МДА - в 7.2 раз. Содержание Хл возрастало в 1.2 раза. Относительно содержание воды на единицу сухой массы побега снижалось в 1.5 раза. Уровень активности Cat изменялся незначительно, активность GPX возрастала в 1.55 раза. Содержание антоцианинов возрастало в 1.48 раза. Содержание пролина, являющегося также осмопротектором, возрастало в 7.6 раз.

Сочетание Си и ВНТ приводило к восстановлению величины сухой массы побега до контрольных значений. При этом уровень H_2O_2 оставался выше контрольного в 1,6 раза. Уровень МДА был выше только в 4.3 раза. Содержание Хл *a* и *b* в этом варианте был самым низким (в 1.3 раза относительно контроля). Уровни активности Cat и GPX достоверно не отличались от их значений у растений находившихся только под воздействием ВНТ. Содержание антоцианинов возрастало в 1.17 раза (по контролю). Уровень пролина был наименьшим по сравнению со всеми опытными вариантами (выше контрольного лишь в 1.4 раза). Т.о. ВНТ оказывая негативное воздействие на побеги *T. aestivum*, в присутствии Си проявляет протекторные свойства.

Ген *drgA* контролирует устойчивость к индуктору окислительного стресса менадиону у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803

Абраменко Екатерина Дмитриевна¹, Семина Мария Евгеньевна²

¹ студентка, ² аспирантка

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: ¹biolog@mail.ru, ²maria.semina@gmail.com

Мутант по гену *drgA* цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803, кодирующему растворимую NAD(P)H:хинон-оксидоредуктазу (NQR), отличается высокой устойчивостью к нитроароматическим ингибиторам (диносебу, DNOC, метронидазолу) и высокой чувствительностью к ингибиторам хинонного типа (например, менадиону). Анализ ферментативных активностей в фотоавтотрофно растущих клетках дикого типа и DrgA-мутанта показал, что существенная доля NADPH:хинон-редуктазной активности связана с функцией NQR. Экспрессия гена *drgA* зависит от содержания дыхательных субстратов в клетках, подавляясь при инкубации в темноте и индуцируясь при добавлении глюкозы. Добавление акцепторов электронов от NQR — менадиона или диносеба — не вызывало существенных изменений в уровне экспрессии гена *drgA*.

Изучено влияние менадиона и менадиола на фотосинтетический транспорт электронов через фотосистему I (ФСІ). В присутствии DCMU (ингибитора ФСII) скорость восстановления $P700^+$ в клетках DrgA-мутанта была ниже, чем у дикого типа. Добавление менадиона приводило к увеличению скорости восстановления $P700^+$ в клетках дикого типа, но резко замедляло восстановление $P700^+$ в клетках

мутанта. При добавлении менадиола (менадиона, восстановленного дитионитом) скорость послесветового восстановления $P700^+$ в клетках DrgA-мутанта резко возрастала.

Таким образом, устойчивость клеток цианобактерии к менадиону связана с функцией NQR, кодируемой геном *drgA*, которая восстанавливает хиноны до гидрохинонов и, возможно, участвует в восстановлении светоокисленного $P700^+$, передавая на него электроны от цитоплазматических дыхательных субстратов. Свойства NQR указывают на возможную гомологию NQR с NAD(P)H:хинон-оксидоредуктазами (DT- диафоразами) животных и растений.

Изучена устойчивость к менадиону у мутантов с нарушением генов, кодирующих компоненты фотосинтетической и дыхательной цепей транспорта электронов. Мутанты по ФСII, сукцинат-дегидрогеназе, NADH-дегидрогеназе NDH-2, хинол- и цитохромоксидазам не отличались от клеток дикого типа по устойчивости к менадиону. Мутант по NAD(P)H-дегидрогеназе NDH-1 характеризовался повышенной чувствительностью к менадиону. С целью изучения функции гена *drgA* в клетках цианобактерии сконструированы мутанты, совмещающие инсерцию в гене *drgA* с мутациями в генах, кодирующих компоненты фотосинтетической и дыхательной электрон-транспортных цепей. Введение мутации по гену *drgA* повышало чувствительность этих мутантов к менадиону. Полученные результаты позволяют предположить, что NQR, наряду с NDH-1, участвует в регуляции уровня окисления NADPH в цитоплазме клеток цианобактерии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных исследований (проект 06-04-48658)

**Каротиноиды плодов яблони при созревании и адаптации к
интенсивному солнечному свету**

Аверчева О.В., Соловченко А.Е.

студент; к.б.н., ст.н.с.

МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, г. Москва

venik@lighters.ru

Старение растений, включая старение листьев и созревание плодов, сопровождается глубокими структурными и биохимическими изменениями тканей, в частности, направленными изменениями их пигментного состава. Стареющие органы растений часто подвергаются воздействию неблагоприятных факторов, таких как чрезмерная инсоляция, что, с учетом снижения эффективности защиты от форм

активированного кислорода при старении, приводит к повышенной опасности фотоокислительного стресса. В этой связи представляет интерес изучение в стареющих тканях динамики и функций каротиноидов (Кар), играющих многогранную роль в защите растений от фотоповреждения.

Изучали состав и соотношение Кар и хлорофиллов (Хл) неdestructивными и традиционными биохимическими методами в кожице созревающих плодов яблони, адаптированной к высоким (солнечная поверхность плода) и низким (теньевая поверхность) потокам солнечного излучения. Выявлены особенности динамики состава Кар, характерные для старения и фотоадаптации. Содержание Кар в кожице солнечной поверхности было выше, а содержание Хл — ниже по сравнению с теневой поверхностью. Во время созревания в ней резко снижалось содержание Хл, тогда как содержание Кар оставалось прежним либо увеличивалось. После съема с дерева наблюдали резкую индукцию синтеза Кар, сильнее выраженную на солнечной поверхности.

В ходе созревания состав Кар подвергался существенным изменениям: отмечено снижение доли β -каротина и лютеина — каротиноидов, участвующих преимущественно в работе реакционных центров и светособирающих комплексов. Содержание виолаксантина значительно возрастало в период созревания, однако соответствующего повышения активности виолаксантинового цикла не зарегистрировано. Наряду с этим увеличивалось содержание эфиров, образованных ксантофиллами и жирными кислотами. Эфиры доминировали среди Кар на завершающих стадиях созревания.

Показано, что на всех этапах созревания в составе Кар кожицы солнечной поверхности плодов сохраняются особенности, характерные для адаптации к интенсивному свету: более высокое содержание Кар-участников виолаксантинового цикла и их эфиров, сниженное содержание β -каротина и лютеина. В целом под действием интенсивного солнечного света изменения Кар напоминают отмеченные при созревании плодов, но более выражены и наступают на ранних этапах развития (созревания) плода.

По-видимому, изменения Кар, наблюдаемые на солнечной стороне, обеспечивают необходимую защиту фотосинтетического аппарата в тканях стареющих плодов от фотоповреждения и связаны со сдвигом гормонального баланса в сторону этилена.

**Применение кормового засухо-, и солеустойчивого растения
Distichlis spicata (L.) Greene для закрепления осушенного дна
Аральского моря
Ажиев Алишер Б.**

Преподаватель кафедры ботаники, кандидат биологических наук
Нукусский государственный педагогический институт имени Ажинияза,
Республика Каракалпакстан, г. Нукус
alishiev@mail.ru, alishiev@rambler.ru

В аридных условиях перспективна интродукция длиннокорневищного вида *Distichlis spicata* (L.) Greene (*Poaceae*), выдерживающего засоление до 2-3 % с целью использования для закрепления осушенного дна Аральского моря и засоленных бросовых земель. Целью работы явилось изучение *Distichlis spicata* (L.) Greene, выявление его кормовых достоинств и фитомелиоративных особенностей в условиях Южного Приаралья.

Морфологические изменения, связанные с ходом развития растений, изучали в основные фазы: вегетация, бутонизация, цветение, плодоношение и фаза относительного покоя. За начало фазы принимался момент наступления её у 10% растений, полное прохождение фазы отмечалось при 50-60%.

В мае 2005 года на участке №1 (15 м²) в Ботаническом саду Нукусского госпединститута *D. spicata* высажен на рассаду. После чизелевания произведена посадка в шахматном порядке по схеме 2x2 м; высажено 117 дерновин. Из них прижились 98 (83, 76%). 32 прижившихся парциальных куста (32,6%) к концу вегетационного периода достигли генеративной фазы и вошли в колошение, на каждом из них было 3-7 колосков, достигших молочной спелости. Остальные кусты не достигли генеративной фазы. На участке №2 приживаемость составила 35,2% (84 дерновин). Растения на этом участке были изреженные, со слабым развитием. Ни один из кустов не достиг генеративного периода.

На II год исследований все растения достигли генеративной сферы, цвели и плодоносили. Стебли достигали 1,5 м длины, размножаясь вегетативным путем, средний маточный куст за вегетативный период увеличивался на 200-300 побегов. Можно сделать вывод, что *D. spicata* хорошо приспосабливается к почвенным и климатическим условиям Республики Каракалпакстан, проходит полный цикл онтогенеза, цветет и плодоносит; его можно успешно выращивать на засоленных, суглинистых и песчаных почвах.

**Роль генов Rho семейства малых ГТФ-аз в регуляции
формирования межклеточных адгезионных контактов**

Айолло Дмитрий Владимирович

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: av16809@comtv.ru

Кадхерин-содержащие межклеточные адгезионные контакты играют важнейшую роль в формировании тканей, эмбриогенезе и патогенезе многих заболеваний. Разрушение межклеточных контактов и угнетение экспрессии кадгерина и других белков межклеточной адгезии часто предшествует инвазии и метастазированию опухолевых клеток. Вместе с тем через цитоплазматический домен молекулы кадхеринов взаимодействуют с актиновым цитоскелетом, стабилизирующим структуру контактов. Хорошо известно, что малые ГТФ-азы семейства Rho (Rac и RhoA) регулируют динамику актинового цитоскелета эукариотических клеток. В лаборатории механизмов канцерогенеза РОНЦ им. Блохина получены данные, указывающие на то, что пространственная организация межклеточных контактов эпителиоцитов и фибробластов определяется общей организацией актинового цитоскелета и регулируется малыми ГТФ-азами семейства Rho.

В ходе выполнения работы были получены экспериментальные данные о наличии тесной связи межклеточных адгезионных структур с активностью малых ГТФ-аз. Ингибитор эффектора Rho-киназы (ROCK) – Y-27632 разрушал актиновые пучки эпителиоцитов линии IAR-2 и фибробластов Rat-1, подавлял образование адгезионных контактов между клетками в узкой ране, резко менял характер псевдоподиальной активности эпителиоцитов при установлении контакта.

Введение в клетки доминантно-негативного белка Rac нарушало межклеточную адгезию эпителиоцитов IAR-2, но не влияло на процесс формирования контактов фибробластов Rat-1, а также клеток Rat-1, трансфицированных плазмидой, несущей ген E-кадгерина. Полученные данные свидетельствуют о различиях в регуляции образования кадхерин-содержащих контактов эпителиальных клеток и фибробластов.

**Морфология сенсорного аппарата антенн личинок насекомых
Hemimetabola и Holometabola**

Акентьева Н.А.

аспирант

Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова

E-mail: akentewa@mail.ru

Важное значение химических стимулов в жизнедеятельности насекомых стимулирует интенсивное изучение сенсорных структур, воспринимающих эти стимулы. Сенсорные органы расположены преимущественно на антеннах личинок и имаго насекомых. Целью работы было изучение особенностей формирования рецепторного аппарата антенн у личинок насекомых с разным типом постэмбрионального развития.

Объектами служили личинки таракана *Nauphoeta cinerea* Oliv. (Hemimetabola) и жука *Tenebrio molitor* L. (Holometabola) из лабораторных культур кафедры энтомологии МГУ. Морфологическое изучение сенсорных органов проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi S-405A.

У *N. cinerea* сенсорные органы исследованы на 4-х нимфальных стадиях развития. Установлено, что с каждой линькой происходит наращивание члеников антенны. После первых линек число члеников увеличивается в среднем на 5-7, а после линек на последних возрастах их количество увеличивается примерно в 2 раза. Нимфы *N. cinerea* младших возрастов имеют жгутиковидные антенны, форма которых не меняется и сохраняется у имаго.

Антенна личинок *T. molitor* состоит из трёх члеников. На протяжении всего периода личиночного развития. (11 возрастов) не обнаружено изменений в числе и наборе типов сенсилл.

Таким образом, личинки насекомых с неполным превращением вылупляются из яйца с еще несовершенным рецепторным аппаратом имагинального типа. Формирование рецепторного аппарата антенн происходит поэтапно в ходе постэмбрионального развития. У личинок насекомых с полным превращением полный набор сенсилл формируется, начиная с первого возраста, и в процессе последующих линек не изменяется. Коренная его перестройка осуществляется только при метаморфозе на стадии куколки.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 04-04-48779).

Цитогенетическая характеристика мейоза дополненных линий как критерий для оценки интрогрессии генетического материала *Solanum lycopersicoides* в геном культурного томата

Александров Олег Сергеевич¹, Князев Андрей Николаевич²

¹студент, ²аспирант

Российский государственный аграрный университет –
МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

E-mail: genetics@timacad.ru

В селекции культурного томата часто используют отдалённую гибридизацию с дикими видами. Одним из таких видов выступает *Solanum lycopersicoides* (*S.l.*). Интрогрессия его ценных свойств в культурный томат путём гибридизации невозможна из-за стерильности гибридов F₁. Решением проблемы интрогрессии могут быть дополненные линии, в геноме которых наряду с основным набором хромосом присутствует 1 или несколько хромосом *S.l.* Доказательством интрогрессии служит наличие кроссинговера между хромосомами, цитологическим отражением которого является хиазмообразование, наблюдаемое в диакинезе профазы-I мейоза.

Дана цитогенетическая характеристика моносомно дополненных линий (МДЛ) томата с хромосомами II, IV, V и XI *S.l.* Материал любезно предоставлен R. Chetelat (TGRC, США). Дополненные растения выявляли путем подсчета числа хромосом, которые идентифицировали с помощью пахитенного анализа, FISH и GISH-гибридизации, а также с использованием хромосомно-специфических молекулярных маркеров.

Цитологический анализ серии МДЛ томата с дополнением II, IV, V и XI *S.l.* выявил различия в степени конъюгации хромосом культурного томата и его дикого сородича. На стадии диакинеза в 24,1% материнских клеток пыльцы (МКП) у МДЛ-II и в 23% - у МДЛ-IV наблюдали хромосомные ассоциации в виде 11 бивалентов и 1 тривалента, что указывает на высокую гомологию участков и целых хромосом II и IV этих видов. В то же время у МДЛ-XI не отмечено случаев образования тривалентов. Изучение метафазы-I показало высокий уровень нарушений мейоза. У МДЛ-II, МДЛ-V и МДЛ-XI доля клеток с нарушениями составляла 64,8%, 8,8% и 15,3% соответственно, что снижает частоту образования нежизнеспособных гамет.

На основании результатов можно сделать заключение о том, что наличие конъюгации и характер нарушений в мейозе могут служить косвенными критериями для оценки возможности интрогрессии генетического материала из хромосом *S.l.* в геном культурного томата.

**Обработка цветовой и яркостной информации в нейронах
наружного коленчатого тела кролика¹**

Алымкулов Джекшен Эмилович²

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия.

E-mail: dj_alym@mail.ru

Наружное коленчатое тело (НКТ) кролика, как и у всех млекопитающих, - релейный центр для передачи зрительной информации от сетчатки в зрительную кору мозга. Наша задача состояла в исследовании реакций нейронов НКТ на мгновенную замену 64 цветowych стимулов в парах (белый, красный, жёлтый, жёлто-зелёный, зелёный, сине-зелёный, синий и чёрный) и 64 белых стимулов разной интенсивности (от 4 до 19 кд/м²). Опыты проведены на 6 европейских кроликах (*Oryctolagus cuniculus*) в возрасте 2-3 лет. Исследованы ответы 51 нейрона НКТ. Обнаружено, что нейроны НКТ, как и нейроны зрительной коры (Полянский и др., 2005), реагируют начальными фазическими разрядами в интервале 50-90 мс от момента замены стимулов и поздними тоническими разрядами. Частота импульсов фазических разрядов зависела от межстимульных различий, а частота тонических разрядов – от интенсивности стимулов.

Факторный анализ фазических ответов позволил выявить две группы клеток. Одна группа специализируется на различении только интенсивности стимулов, а другая – на различении как интенсивностей, так и цветового тона стимулов. По реакциям нейронов первой группы клеток (44 нейрона, или 86% от исследованных) удалось выявить двумерное ахроматическое пространство с яркостной и темновой осями. По реакциям нейронов второй группы клеток (7 нейронов, или 14% от исследованных) удалось выявить четырёхмерное пространство с двумя цветовыми и двумя ахроматическими осями.

Цветовые и ахроматические пространства нейронов НКТ оказались принципиально сходными с пространствами, выявленными ранее для нейронов зрительной коры кролика при тех же условиях стимуляции (Полянский и др., 2005). Сенсорные пространства нейронов НКТ также принципиально совпадали с пространствами, полученными ранее путём анализа компонента N85 зрительных вызванных потенциалов кролика (Полянский и др., 2000), подтверждая тем самым принцип векторного кодирования информации в зрительном анализаторе. Тонический разряд большинства нейронов НКТ линейно коррелирует с изменением

интенсивности стимула и может рассматриваться как отражающий преддетекторную функцию для нейронов-детекторов зрительной коры.

Влияние октадеканейропептида на эректильную функцию крыс при интратекальном введении

*Андреев-Андреевский Александр Александрович,
Мартьянов Андрей Александрович*

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: quadra@hotmail.ru

Октадеканейропептид (ODN) является эндогенным регулятором, оказывающим анксиогенный и анорексигенный эффекты. Пептид влияет на экспрессию кортиколиберина, проопиомеланокортина, NPY, а также мобилизацию Ca^{2+} в астроцитах. Интратекальное введение предшественника ODN, DBI, снижает чувствительность крыс к болевым стимулам.

В настоящее время роль эндогенных лигандов рецепторов ГАМК, в частности, ODN, в регуляции половой функции остается практически не раскрытой. В данной работе исследовали влияние ODN, вводимого под оболочку спинного мозга на уровне сегментов L5-S2, на рефлекторную эрекцию.

В острых экспериментах под глубоким уретановым наркозом (1,2 г/кг в/б) самцам крыс перерезали спинной мозг и вживляли интратекальный катетер для введения веществ. В сонную артерию и пещеристое тело имплантировали катетеры для регистрации давления (САД и ДПТ соответственно). Эрекцию вызывали электростимуляцией дорсального нерва пениса. При анализе ответов отдельно рассматривали высокоамплитудную часть (ДПТ больше 25% от максимального).

Было обнаружено, что после интратекального введения 10 мкг ODN происходит усиление рефлекторной эрекции (рис.1). Эффект был выражен через 5 и 15 минут после введения вещества и особенно заметен при анализе высокоамплитудных фрагментов. Так, длительность фрагментов с высокими значениями давления через 5 и 15 минут после введения ODN возрастала на 24,5 ($p=0,034$) и 23,0% ($p=0,048$) соответственно. Одновременно с этим, площадь под кривой ДПТ/САД увеличивалась на 17,3 и 28,7%, однако различия не достигли уровня статистической значимости. К 25 минуте после введения вещества эректильные ответы крыс контрольной и опытной групп не

различались. Вероятно, влияние октадеканейропептида реализуется через растормаживание мотонейронов, иннервирующих мышцы таза, активность которых частично обуславливает повышение давления в пещеристых телах при эрекции.

Содержание J-пептида в нормальных и опухолевых тканях легких человека при плоскоклеточном раке

Антипова Надежда Викторовна

Студентка кафедры биоорганической химии

Московский Государственный Университет им.М.В.Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: anadya@zmail.ru

Целью данной работы являлось определение уровня экспрессии J-пептида в нормальных тканях человека и исследование его содержания в экстрактах нормального легкого относительно экстрактов образцов опухоли, образованной в результате трансформации эпителия.

Известно, что J-пептид продуцируется плазматическими клетками слизистой и желез, высокодифференцированными иммунocyтaми, производящими полимерные секреторные иммуноглобулины – в основном димеры или олигомеры IgA и пентамеры IgM, которые образуются из соответствующих мономеров за счет взаимодействия с J-пептидом. Показана возможность регуляции образования этих иммуноглобулинов, зависящая от содержания в клетках J-пептида. Эти антитела образуют “первую линию” защиты от патогенов и вредных веществ, которые попадают на слизистую. Секреторные иммуноглобулины переносятся из иммунocyтa на поверхность слизистой через клетки эпителия в результате активного транспорта, медируемого полимерным иммуноглобулиновым рецептором. Таким образом, содержание J-пептида в иммунocyтaх, определяющее количество образующихся полимерных иммуноглобулинов, непосредственно связано с иммунотранслоцирующей функцией эпителия, которая может быть зависимой от его состояния. Одной из возможных причин изменения состояния эпителиальных клеток может стать их трансформация с последующей прогрессией опухоли.

Работа является частью проекта, который направлен на решение фундаментальной проблемы современной молекулярной биологии – поиск новых потенциальных маркерных белков, свидетельствующих о клеточной трансформации и прогрессии опухолей человека.

С помощью метода иммуноблота с антителами к 1)рекомбинантному J-пептиду, 2) плазмину,3) суммарным иммуноглобулинам,4) в-актину-получена количественная оценка содержания J-пептида в лизатах разных тканей (центральное легкое,периферическое и эмбриональное легкое,кровь,печень,селезенка,толстый и тонкий кишечник,мышца и мозг)и оценен вклад кровяной фракции в соответствующих образцах.Количество выявляемых белков рассчитывали по интенсивности окраски с помощью программы GEL Pro. Сравнение количества J-пептида в опухолевых тканях относительно нормальных показало,что из 26 пар образцов 13 имеют up-регуляцию и 13-down(количественно близкую к up).

Сравнительное изучение молекулярной динамики биомембран с варьируемым липидным составом

Антонов М.Ю.

аспирант 2 года

биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова

Биологические мембраны и их свойства играют важную роль в большом количестве различных клеточных процессов. Основу строения биологических мембран составляют бислои липидных молекул. Биологические мембраны различаются по липидному составу, который определяет большинство физико-химических свойств мембран таких как текучесть, жесткость и др. Изучение динамики липидных бислоев представляет интерес, для понимания физико-химических свойств мембраны.

С помощью метода молекулярной динамики в данной работе изучались бислои, состоящие из следующих липидов: 1-пальмитоил-2-олеоил фосфатидилхолина (POPC), дипальмитоилфосфатидилхолина (DPPC), кардиолипина. Для расчета траекторий использовался пакет молекулярной динамики RUMA с силовым полем Amber99. Были посчитаны траектории для гидратированных участков бислоев, состоящих из 60 молекул POPC и DPPC, 40 молекул POPC, DPPC и кардиолипина в периодических граничных условиях при различных условиях окружающей среды. Отрицательный заряд компенсировался добавлением в воду ионов натрия. Варьировалась температура, диэлектрическая проницаемость, и давление. Изучались такие параметры мембраны, как площадь на липид, плотность, рассматривались зависимости от параметров окружающей среды.

Работа выполнена на кафедре биоинженерии (научный руководитель профессор К.В.Шайтан) при финансовой поддержке РФФИ (грант 04-04-49645) и Роснауки.

Роль мамиллярных ядер гипоталамуса в регуляции дыхания при гипоксии

Арутюнян Рубина Самвеловна

научный сотрудник

Ереванский государственный университет, биологический факультет,
Ереван, Армения

E-mail: anibur2510@yandex.ru

На современном этапе технического прогресса особенно актуально изучение механизмов воздействия различных экологических факторов на организм. Среди подобных факторов особое место занимает кислородная недостаточность, с которым организм сталкивается на протяжении всей своей жизни. В патогенезе любого заболевания лежит большее или меньшее нарушение кислородного гомеостаза организма, потому знание тонких механизмов регуляции дыхания при гипоксии имеет не только теоретическое, но и прикладное значение.

В условиях гипоксии сохранение газового гомеостаза организма происходит посредством взаимодействия бульбарного дыхательного центра и супрабульбарных образований. Гипоталамус, как высший подкорковый центр вегетативной нервной системы, оказывает мощное регулирующее влияние на все жизненно важные функции организма, в том числе и на дыхание.

Исследования проведены в условиях комплексного воздействия гипоксии и электростимуляции латерального (LM) и медиального (MM) мамиллярных ядер гипоталамуса.

До “подъема” животных, в условиях нормоксии, раздражение LM и MM ядер гипоталамуса оказывало преимущественно активирующее влияние на дыхательные нейроны продолговатого мозга. Активация проявлялась в увеличении средней частоты разрядов у 75% исследуемых нейронов, у 20% отмечалось торможение (уменьшение средней частоты разрядов), а 5% остались ареактивными.

После установления исходных данных при нормоксии электростимуляция этих же ядер проводилась при “подъеме” животных в барокамере. В начальной фазе гипоксии (4-5 тыс. м) наступала гипоксическая активация респираторных нейронов, что обусловлено как рефлекторным, так и непосредственным воздействием пониженного pO_2

на нервные клетки и деполяризацией мембран. На таком возбужденном фоне электростимуляция LM и MM ядре вызывало слабо выраженную ответную реакцию. Активация наблюдалась у 55% нейронов, подавление у 32% и 13% остались ареактивными.

В условиях тяжелой гипоксии (7,5-8 тыс.м) острая нехватка кислорода приводила к резкому угнетению фоновой импульсной активности нейронов дыхательного центра продолговатого мозга. На таком угнетенном фоне раздражение исследуемых ядер гипоталамуса продолжало оказывать относительно выраженный, для этих тяжелых условий кислородного снабжения, облегчающий эффект.

Такое взаимоотношение гипоталамуса, в частности LM и MM ядер, с дыхательным центром продолговатого мозга в различные фазы гипоксии, очевидно играет важную роль в тонкой регуляции дыхательного центра и обеспечении адекватного изменения дыхания в целях приспособления организма к острой гипоксии.

**Исследование аутогенного контроля экспрессии оперона *rpsB-tsif*
Escherichia coli: идентификация регуляторной области.¹**

Асеев Леонид Викторович

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: aleroy@yandex.ru

В основе регуляции экспрессии большинства оперонов рибосомных белков *Escherichia coli* лежит механизм аутогенной репрессии. В случае оперона *rpsB-tsif*, кодирующего жизненно важные компоненты клетки рибосомный белок S2 и фактор элонгации трансляции Ts, регуляция совершенно не изучена; не известно число промоторов, направляющих экспрессию оперона и их положение.

Целью работы является исследование регуляции *rpsB-tsif* оперона и поиск регуляторных сигналов. Для изучения возможности аутогенной репрессии созданы плазмиды, экспрессирующая белок S2 (pS2), и несколько специализированных штаммов *E. coli*, в которых синтез бета-галактозидазы с хромосомного *lacZ*-гена находится под контролем *lac*-промотора/оператора (*Plac/op*) и трансляционного инициаторного района (ТИР) гена *rpsB* с разной длиной 5'-нетранслируемой области (НТО). ТИР с 5'-НТО длиной в 50 нт обладает высокой активностью в трансляции, но только при открытом *Plac*, при этом активность ТИР не подвержена регуляции белком S2. ТИР с самой протяженной 5'-НТО

(208 нт) показал активность в синтезе бета-галактозидазы не только при открытом (в присутствии IPTG), но и при молчащем *Plac*. В присутствии pS2 (но не pS1 или pS15, контрольных плазмид, экспрессирующих рибосомные белки S1 и S15, соответственно) эффективность трансляции падала в 10 раз (аутогенная репрессия). Вероятно, в пределах этой области функционирует промотор, специфичный для *rpsB*-оперона. Анализ последовательности выявил присутствие участка с распределением оснований, типичным для так называемого удлинённого -10 промотора TTTGTGgTAT(-10)AAA, активность которого не требует -35 области. В третьей конструкции, с НТО длиной 162 нт, промотор был делетирован, что привело к снижению эффективности синтеза, но аутоконтроль при этом сохранялся, хотя фактор репрессии снижался с 10 до 3,5. Синтез бета-галактозидазы наблюдался и при молчащем *Plac*, что предполагает наличие второго, более слабого *rpsB*-специфичного промотора. Оперон *rpsB-tsfc*, как и другие опероны рибосомных белков, регулируется по механизму негативного аутогенного контроля, в эту регуляцию вовлечен участок 5'-НТО *rpsB* мРНК (позиции от -50 до -208 относительно инициаторного AUG кодона). В этом участке присутствуют 2 *rpsB*-промотора, что не позволяет пока сделать вывод, на какой стадии – транскрипции или трансляции – происходит репрессия. В присутствии хромосомной мутации *rpsB1(ts)* активность ТИР-208 и ТИР-162 возрастала в 3,5 и 2,5 раза, соответственно, что указывает на то, что *rpsB*-ген в норме частично репрессирован и что мутантный S2 дефектен как репрессор.

Полиморфизм генов ферментов антиоксидантной защиты и их роль в развитии профессионального хронического бронхита

Ахмадишина Л.З.¹, Корытина Г.Ф.¹, Мингазова С.Р.³, Янбаева Д. Г.¹, Бакиров А.Б.³, Викторова Т.В.^{1,2}

аспирант

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра
Российской академии наук, Уфа, Россия

²Башкирский Государственный Медицинский Университет,
педиатрический факультет, кафедра биологии, Уфа, Россия

³Институт медицины труда и экологии человека, Уфа, Россия
e-mail: ecolab_203@mail.ru

Представлены результаты анализа полиморфных вариантов генов ферментов антиоксидантной защиты: каталазы 1 (CAT1),

NAD(P)H:хинон- оксидоредуктазы 1 (NQO1), глутатион-S-трансфераз классов μ , θ , π (GSTM1, GSTT1, GSTP1) и их роли в развитии профессионального хронического бронхита.

Исследованы образцы ДНК 135 больных с профессиональным бронхитом. Средний возраст больных составил 55.01 ± 11.54 лет. У всех обследованных больных стаж работы во вредных условиях труда превышал 10 лет. В качестве контроля были использованы образцы ДНК 299 практически здоровых неродственных индивидов, проживающих в Республике Башкортостан. Анализ проводили методом ПЦР и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Достоверность различий в распределении между группами определяли методом χ^2 с коррекцией Йетса. О силе ассоциации генотипов и комбинаций генотипов с хроническим бронхитом судили по величине отношения шансов (OR).

Аллель С полиморфного локуса -262С/Т гена CAT1 встречается достоверно чаще в группе больных (81.48%) по сравнению с контролем (75.0%), $\chi^2=3.99$, $p=0.05$. Недавними исследованиями зарубежных авторов показано, что однонуклеотидная замена -262С→Т в гене CAT1 приводит к сверхэкспрессии фермента, что, возможно, способствует более эффективной утилизации активных форм кислорода. Таким образом, нами было показано, что присутствие аллеля С увеличивает риск развития профессионального хронического бронхита (OR=1.47, 95%CI=1.01-2.14). При сравнении группы больных с контролем установлено увеличение частоты генотипа GG по гену GSTP1 в группе больных до 9.68% против 1.95% в контроле ($\chi^2=8.67$, $p=0.005$). Распределение частот генотипов и аллелей генов NQO1, GSTM1, GSTT1 в группах больных и здоровых индивидов сходно. Изменение частоты полиморфных вариантов генов CAT1, GSTP1 среди больных указывает на их возможную прогностическую значимость в отношении генотипирования предрасположенности к данному заболеванию, поскольку они задействованы в патогенезе заболевания и информативны для последующего анализа.

**Изменения когерентности ЭЭГ на разных стадиях зрительной
установки у детей дошкольного возраста**

Ашкинази Марина Леонидовна

Институт Высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
Москва, Россия

E-mail: yolly@mail.ru

Целью работы было выявить динамику ЭЭГ на разных стадиях неосознаваемой когнитивной зрительной установки у детей 5-7 лет. Исследовали 30 детей, посещавших дошкольную гимназию.

Испытуемым 15 раз предъявлялись две окружности разного диаметра в качестве стимулов, формирующих установку, и 30 раз две равные – в качестве тестирующих ее. Установку считали устойчивой, если на стадии тестирования испытуемый 6 и более раз определял равные окружности как неравные. Дети были разделены по медиане на две возрастные группы – младше 6,1 года и старше 6,1 года. У подавляющего большинства детей формировалась установка, выражавшаяся в иллюзорном восприятии соотношения величины кругов. При этом картины когерентности в альфа-диапазоне значительно отличались у старших и младших детей, а также у детей, у которых выработалась устойчивая установка и у тех, у которых выработалась подвижная установка.

На стадии актуализации установки у старшей возрастной группы наблюдалось значительное увеличение внутри- и межполушарных когерентных связей с фокусами активности в левом лобно-височном и правом теменном отведениях. На стадии ее угасания у них сохранялись только когерентные связи в затылочной области. У младшей возрастной группы, напротив, многочисленные когерентные связи с фокусами активности в правой лобной и левой центральной областях появлялись на стадии угасания установки.

У группы испытуемых с подвижной установкой (независимо от возраста), также как у старшей возрастной группы, на стадии актуализации установки наблюдалось значительное увеличение когерентных связей, причем один из главных фокусов когерентности находился в левом лобно-височном отведении. Левая лобно-височная область оказалась связана со многими другими, в том числе затылочными, областями коры. На стадии угасания установки у этой группы испытуемых наблюдалось существенное уменьшение когерентных связей. У испытуемых с устойчивой установкой такой картины не наблюдалось.

Таким образом, динамика функции когерентности у группы старших детей и у группы детей с неустойчивой установкой оказались очень похожи.

Анализ функции когерентности показывает, что подвижность зрительной установки связана со зрелостью лобных областей коры и их связью с другими корковыми областями, показателем чего может служить значение функции когерентности.

**Влияние интерферона и его низкомолекулярного индуктора
амиксина на чувствительность условно-патогенных бактерий к
пероксинитриту**

Бацко О.В., аспирант, Стрельцова Г. Г., студентка

Кафедра микробиологии и вирусологии

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова

65026, Украина, Одесса, ул. Дворянская, 2

galka.05@list.ru

Известно, что способность бактерий к персистенции связана с их биологическими свойствами. В частности, важную роль играет их устойчивость к активным формам кислорода, которые обладают бактерицидным действием.

Целью работы было изучение влияния интерферона и его низкомолекулярного индуктора амиксина на устойчивость *Salmonella enteritidis* var. *Isatchenko* ВНИИСХМ 18/1 и *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 к пероксинитриту.

Стерильную жидкую среду Гисса, содержащую различные концентрации амиксина и интерферона, инокулировали суспензиями тест-штаммов и инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. Контролем служили клетки, не обработанные препаратами. Устойчивость клеток к пероксинитриту оценивали по числу КОЕ, выросших на МПА после их инкубации с пероксинитритом в концентрации 7,5 мМ в течение 1 ч при 37 °С.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что прединкубация клеток с амиксином в концентрации 50 мкг/мл и 200 мкг/мл повышает чувствительность *Salmonella enteritidis* к пероксинитриту на 50 % и 25 % соответственно, а интерферон в концентрации 20 МЕ – на 50 % по сравнению с контролем. Чувствительность *Staphylococcus aureus* к пероксинитриту после инкубации с амиксином во всех исследуемых концентрациях повышается на 25%, а интерферон практически не

оказывает влияния на чувствительность данного тест-штамма к пероксинитриду.

**Исследование сезонных изменений физико-химических свойств
микросомальных мембран, обогащенных Na,K-АТФазой, из почек
суслика *Spermophilus undulatus***

Басевич Евгений Викторович

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: basevichev@mail.ru

Одним из приспособлений мелких млекопитающих к выживанию в зимний период является гибернация (зимняя спячка) – сложный комплекс физиологических и биохимических перестроек, направленных на уменьшение энергозатрат и снижение скорости метаболизма, и приводящих к снижению температуры тела до 1-2°C. Физиологические процессы полностью не замирают, на низком уровне осуществляется метаболизм. Сохраняется необходимость выведения накопившихся метаболитов при кратковременных пробуждениях между баутами спячки; выделительная система во время гибернации продолжает функционировать в замедленном режиме, а основным потребителем АТФ в почках становится Na,K-зависимая АТФаза, активность которой в этих условиях заметно падает.

Поскольку Na,K-АТФаза является интегральным мембранным ферментом с зависимостью активности от липидного микроокружения, исследовали микровязкость гидрофобной области мембран в микросомальных фракциях, содержащих Na,K-АТФазу из почек суслика *Spermophilus undulatus*. С помощью флуоресцентного зонда пирена было установлено, что в зимний период микровязкость гидрофобной области мембран микросом уменьшается, что может быть связано с увеличением содержания ненасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот в мембранах. Изучение белок-липидных взаимодействий показало, что в препаратах мембран из почек зимних животных миграция энергии с остатков триптофана белка на пирен ниже, чем в препаратах летних животных, что свидетельствует о меньшей эффективности взаимодействия пирена с гидрофобными доменами мембранных белков. Это подтверждается и тем, что отношение липид/белок (по весу) в препаратах из летних животных, близко к 1, а в препаратах из зимних животных вдвое больше. Расчет

константы Штерна-Фольмера, характеризующей способность пирена тушить флуоресценцию белка, также подтвердил более эффективное взаимодействие молекул белка и пирена в препаратах мембран из почек летних животных. Исследование с другим флуоресцентным зондом 1-анилино-8-нафталинсульфонатом также выявило сезонные различия в свойствах мембранных препаратов. Полученные данные позволяют предполагать, что снижение микровязкости мембран микросом из почек суслика зимой является адаптационным приспособлением, позволяющим Na,K-АТФазе функционировать в этих мембранах при низких температурах.

Анализ влияния промоторного полиморфизма гена трансформирующего фактора роста бета-1 на фенотипическую вариабельность количественного содержания основных

мембранных белков эритроцитов

Белугин Дмитрий Александрович

аспирант

Курский государственный университет, кафедра зоологии и теории эволюции, Курск, Россия

E-mail: d.belugin@rambler.ru

Целью нашего исследования явилось изучение вклада функционально значимой точечной мутации -509С/Т в 5'-фланкирующем регионе гена TGF β 1 в количественную вариабельность содержания основных мембранных белков эритроцитов человека. Материалом послужили образцы венозной крови 182 практически здоровых добровольцев. Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ. Мембранные белки фракционировали одномерным электрофорезом в полиакриламидном геле. Распределение частот генотипов (СС=0.453, СТ=0.435, ТТ=0.112) находилось в равновесии Харди-Вайнберга ($\chi^2=0.07$; d.f.=1; $p>0.05$). Анализ вида распределения количественного содержания цитоскелетных белков в каждой из сравниваемых подгрупп (подгруппы с генотипами СС, СТ и ТТ, по 82, 77 и 23 человек соответственно) с помощью критерия Колмогорова-Смирнова показал нормальное распределение признака. С целью определения различий между подгруппами по исследуемому признаку был проведен дисперсионный анализ, в результате чего были обнаружены различия средних значений содержания белка дематина в группах ($F=5.14$, $p<0.05$). Для выявления характера влияния исследуемого ДНК-полиморфизма были проведены попарные сравнения и рассчитаны F-критерий Фишера и t-критерий

Стьюдента с учетом поправки Бонферрони. В результате при сравнении групп с генотипами СС и СТ было получено значение F выше критического для β -спектрина, 2.3-анкирина и анионного транспортера. Статистически значимые различия в средних значениях количественного содержания дематина были обнаружены между группами с генотипами СС и ТТ ($t=-2.57$, $p<0.05$), для этих же групп были характерны различия в дисперсиях признаков (глюкозный транспортер, α -тропомиеозина). Были также обнаружены гетерогенность дисперсий анализируемого признака при сравнении групп с генотипами СТ и ТТ (α -тропомиеозина) и статистически значимые различия в средних значениях количественного содержания дематина ($t=-3.22$, $p<0.05$). Полученные результаты свидетельствуют о влиянии промоторного полиморфизма гена TGF β 1 на содержание дематина в мембранах эритроцитов, а также вносит вклад в варибельность количественного содержания ряда мембранных белков.

Актиновый цитоскелет инфузории *Paramecium caudatum* в норме и на начальных этапах заражения эндобионтом *Holospira obtusa*

Бенкен Константин Александрович

Студент

Санкт-Петербургский Государственный Университет

cytologspbgu@yandex.ru

Симбиотическая система инфузория *Paramecium caudatum* – альфа-протеобактерия *Holospira obtusa* является классическим объектом изучения взаимодействия клетки хозяина с симбионтом, так как представляет собой простейшую модель: бактерия в одноклеточном ядерном организме. Уникальность рассматриваемой симбиотической системы заключается в том, что *H. obtusa* специфически проникает в макронуклеус.

P. caudatum фагоцитирует бактерии, взвешенные в воде. *H. obtusa* попадает в нее, как и все остальные бактерии, но не разделяет судьбу остальных — она выходит из фагосомы на ранней стадии. После заражения клетки бактерия живет и делится в ядре, в то время как клетка хозяина может продолжать свое существование и размножаться.

Несмотря на относительно хорошую изученность симбиотической системы *P. caudatum* - *H. obtusa*, до сих пор не известно, как *H. obtusa* использует цитоскелет клетки-хозяина для своего перемещения к ее ядру. Вместе с тем сам актин у парамеций значительно отличается от актина других организмов и считается некоторыми авторами

нетрадиционным, а система актиновых филаментов у них мало изучена. Настоящая работа представляет собой исследование организации актиновых элементов цитоскелета у *P. caudatum* в норме и на ранних этапах заражения бактерией *H. obtusa*.

В работе были использованы поликлональные антитела к актину 1-1 *P. aurelia*, полученные в лаборатории проф. Платтнера (H. Plattner, University of Konstanz, Germany) и любезно им предоставленные. Антитела были протестированы на специфичность к актину *P. caudatum* с помощью тотального белкового фореза и иммуноблота. Для определения локализации актина в клетке использовался метод иммунофлюоресценции.

При проведении иммуноблоттинга нами были выявлены две полосы, соответствующие белкам с м.в. 40-43 кДа, и полоса, соответствующая белку с меньшим молекулярным весом. Этот факт, возможно, объясняется действием протеаз и наличием у *P. caudatum* нескольких модификаций актина 1-1.

При обработке целых клеток антителами к актину 1-1 выявлена локализация актина 1-1 в трех структурах: 1) в элементах кортекса, базальных гранулах ресничек, 2) в ротовом аппарате клетки и посторальной фибрилле и 3) вокруг некоторых, предположительно ранних, пищеварительных вакуолей. В последнем случае наблюдалось фокусное, неравномерное распределение актина 1-1.

Предварительные результаты наших экспериментов позволяют предположить возможность участия актинового цитоскелета инфузории *P. caudatum*, по крайней мере, в ранних стадиях заражения *H. obtusa*.

Кинетические эффекты трансмембранного электрического потенциала на перенос электронов в донорной части фотосистемы I

Безменов Николай Николаевич

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: busymenov@mail.ru

Целью работы было исследование влияния изменений мембранного потенциала (МП) тилакоидов в цикле свет–темнота на редокс переходы пигмента реакционного центра ФС I P700. Для этого использовали способность редокс медиатора феназинметосульфата (ФМС) усиливать фотогенерацию МП, а также повышать электрохимические градиенты в хлоропластах и отрицательный диффузионный потенциал,

возникающий при затемнении. Для устранения МП использовали калиевый переносчик валиномицин.

Опыты проводили на хлоропластах гороха, выделенных по стандартной методике. Окислительно-восстановительные переходы хлорофилла реакционного центра ФСІ Р700 регистрировали по разности изменений абсорбции в области 810 и 870 нм (ΔA_{810}). Кинетические кривые сигнала ΔA_{810} в изолированных хлоропластах были проще, чем в целых листьях гороха, отличаясь меньшим числом компонент и слабой зависимостью от предварительного освещения. В препаратах тилакоидов стадии задержанного окисления Р700 не проявлялись из-за отсутствия ферментов стромы и ослабления нефотохимического тушения в ФСІІ. После добавления в среду ФМС кинетика сигнала ΔA_{810} существенно менялась, причем наибольшие изменения отмечены в реакции на выключение света.

Полученные результаты показали, что перенос электрона в донорной части ФСІ контролируется трансмембранным электрическим потенциалом. Создание на мембране отрицательного диффузионного потенциала способствует темновому восстановлению Р700⁺ и отвечает за избыточное восстановление Р700 в переходный период. Последующее окисление Р700 до исходного темнового уровня связано с диссипацией в темноте трансмембранных градиентов Н⁺ и ФМС⁺ и исчезновением диффузионного потенциала. Учитывая одинаковую электрогенную активность реакций восстановления Р700 в системах с искусственными кофакторами (ФМС) и с природным донором пластоцианином, можно предполагать, что влияние МП на реакции восстановления Р700 может проявляться и в нативной системе. Полученные данные позволяют предполагать, что уровень МП сказывается на редокс состоянии Р700 не только после выключения света, но и на протяжении индукционного периода, когда происходят большие изменения МП.

**Использование биопрепарата-нефтедеструктора «Ленойл» и
биоудобрения «Азолен» при рекультивации обработанной
отбеливающей земли**

Биккина А.Г., Логинов О.Н., Силищев Н.Н.
Институт биологии УНЦ РАН, Уфа, 450054

Технологии рекультивации нефтезагрязненных почв основаны на способности различных микроорганизмов усваивать углеводороды нефти. Основной трудностью разработок в этом направлении является

снижение эффективности биопрепаратов вследствие неблагоприятного для микроорганизмов-деструкторов питательного режима, складывающегося в загрязненных грунтах. Регулирование азотного режима нефтезагрязненных почв можно достичь интродукцией в них свободноживущих азотфиксаторов.

В Институте биологии Уфимского научного центра РАН выделен и запатентован в Российской Федерации новый консорциум нефтеокисляющих бактерий *Bacillus brevis* и *Arthrobacter species*, являющийся основой биопрепарата-нефтедеструктора «Ленойл». Биодобрение «Азолен» разработано на основе штамма *Azotobacter vinelandii* ИБ 4 также запатентованное в Российской Федерации, обладает способностью к фиксации атмосферного азота, синтезу стимуляторов роста растений (цитокининов и ауксинов), а также проявляет антагонизм к фитопатогенным грибам.

Объектом исследования является отработанная отбеливающая земля, используемая в качестве природного адсорбента для доочистки базовых масел.

В результате рекультивации отработанной отбеливающей земли, загрязненной углеводородами (181-230 г/кг), в лабораторных и полевых условиях наибольшее снижение содержания нефтепродуктов было зарегистрировано в варианте комплексного использования биопрепаратов. Степень биodeградации составила 78% в лабораторных опытах и 69% в полевых условиях за 150 суток. Максимальная численность углеводородокисляющих микроорганизмов в субстрате также зафиксирована в варианте совместного использования биопрепаратов, что свидетельствует о создании оптимальных условий для их развития и хорошо согласуется с динамикой процесса деструкции углеводородов. Использование разработанной технологии биоремедиации нефтезагрязненного техногенного объекта позволило значительно снизить его фитотоксичность (тест на всхожесть семян редиса).

Эволюция внутриклеточных Ca^{2+} -зависимых протеаз (кальпаинов)

Бондарева Людмила Александровна

научный сотрудник

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск,
Россия

E-mail: bondareva@bio.krc.karelia.ru

Основным агентом деградации внутриклеточных белков в цитозоле являются Ca^{2+} -зависимые протеазы, μ -кальпаин и m -кальпаин (различающиеся молекулярной массой и чувствительностью к активатору - Ca^{2+}), наряду с их ингибитором кальпастатином составляющие регуляторную кальпаиновую систему. Высокая концентрация Ca^{2+} , требуемая для активации кальпаинов *in vitro*, является центральной проблемой механизмов регуляции активности кальпаинов в клетке. Кальпаины участвуют в ряде клеточных процессов, включая перестройку цитоскелет/мембранных комплексов, различные пути передачи сигнала, апоптоз и другие. Гибель эмбрионов нокаутных по 28 кДа субъединице мышей свидетельствует о важности кальпаинов; отсутствие только одного из них компенсируется другим, что указывает на сходство расщепляемых субстратов. Эта система задействована в развитии ряда патологий ("кальпаинопатий"), обусловленных нарушением экспрессии генов кальпаинов и гомеостаза Ca^{2+} в клетках.

Как μ -, так и m -кальпаины ("повсеместные" формы) - гетеродимеры с гомологией их идентичных 28 кДа и специфичных 80 кДа субъединиц 55–65%. Идентифицированы 14 "кальпаиновых" (гомологичных 80 кДа субъединице кальпаинов) последовательностей мРНК у млекопитающих; гены кальпаин-подобных протеаз найдены в других организмах (нематоды, насекомые, грибы, растения). Большинство белковых молекул, кодируемых этими мРНК, не выделены. В ряде случаев эти гомологи кальпаинов не содержат Ca^{2+} -связывающего домена (атипичные кальпаины), а в отдельных случаях – некоторых остатков каталитической триады (Cys, His, Asn), что указывает на выполнение кальпаинами некоторой функции помимо протеолитической. Гомологи кальпаинов не обнаружены у прокариот. Большинство известных кальпаинов низших организмов являются мономерами, для них нехарактерна регуляция кальпастатином (у беспозвоночных не обнаруживается активность кальпастина и отсутствуют кальпастин-подобные генные последовательности).

Основные эволюционные преобразования кальпаиновой системы, прослеживаемые у перечисленных таксонов, направлены на усиление пространственного и временного контроля активности этих протеаз и заключаются в усложнении их состава, приобретении Ca^{2+} -связывающих структур, появлении эндогенного регулятора (кальпастина), повышении чувствительности к Ca^{2+} .

**Лихеносинузии Юганского Государственного природного
заповедника**

Божко Александр Александрович

студент

Сургутский Государственный университет, Сургут, Россия

Различные виды лишайников, изучение которых немаловажно при биомониторинге, образуют специфические для каждого местообитания группировки, называемые *лихеносинузиями*. Лишайниковые ассоциации на территории Юганского заповедника изучены слабо, что обуславливает актуальность настоящего исследования.

Целью работы является определение характерных эпифитных лихеносинузий для различных видов деревьев на территории Юганского государственного природного заповедника (ЮГПЗ). Поставлены задачи: заложить постоянные пробные площади для длительного слежения за изменением видового состава лихеносинузий различных растительных сообществ ЮГПЗ; изучить видовой состав и измерить относительную численность эпифитных лишайников на исследуемых площадях; выделить наиболее характерные лихеносинузии для различных субстратов; сравнить эпифитные лихеносинузии различных растительных сообществ ЮГПЗ.

Выявлен видовой состав наиболее характерных лихеносинузий в среднем течении р. Вуя-Яны (ЮГПЗ). Выделены 5 эпифитных лихеносинузий для 3 видов деревьев (*Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica*, *Betula pendula*), включающие 13 видов эпифитных лишайников. Предпринята попытка сравнения лихеносинузий различных местообитаний.

Материалом послужили сборы за полевые сезоны 2003-2004 гг. Исследования проводились в Юганском Государственном заповеднике (ЮГПЗ) близ научного стационара № 2 «Вуя-Яны» (40 км от границы заповедника). Сбор лишайников осуществлялся с пробных площадей, заложенных в различных фитоценозах. Субстрат – стволы различных

видов деревьев. Всего на вышеперечисленных территориях собрано около 150 образцов лишайников.

Наличие 2 отличных синузий для субстратов *P. sylvestris* и *B. pendula* объясняется различающимися по влажности местообитаниями, для которых характерны обнаруженные лишеносинузии.

Участие хлорида в активации пыльцевого зерна табака

Брейгина Мария Александровна

Студентка

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: plantphys@biophys.msu.ru

Хлоридные каналы работают в тесной связи с другими транспортными белками и играют важную роль в реализации начальных этапов многих сигнальных путей. Изменение мембранного потенциала и модуляция ионных потоков принадлежат к наиболее быстрым изменениям, вызываемым фитогормонами, различными осмотическими условиями или сигналами от микроорганизмов. Хлорид и хлоридные каналы имеют также большое значение для поддержания внутриклеточного ионного гомеостаза.

Роль хлорида в развитии и прорастании пыльцевого зерна остается мало изученной. Установлено, что в процессе развития пыльцевого зерна происходит накопление хлорида в цитоплазме вегетативной клетки; в то же время блок анионных каналов полностью подавляет активацию прорастания и рост пыльцевой трубки. В связи с этим возникает вопрос о механизмах действия хлорида на начальном этапе прорастания пыльцевого зерна. Один из возможных механизмов включает участие хлоридных каналов в контроле изменения мембранного потенциала вегетативной клетки пыльцевого зерна.

С целью проверки этой гипотезы в настоящей работе изучали эффект блока анионных каналов на изменение мембранного потенциала в процессе активации *in vitro* пыльцевого зерна табака (*Nicotiana tabacum* L., сорт Petit Havana). В качестве ингибитора хлоридных каналов использовали NPPB (5-нитро-2-(3-фенилпропиламино)бензойную кислоту), взятую в концентрации 40 мкМ, полностью блокирующей прорастание. Значение мембранного потенциала определяли микрофлуориметрическим методом, с использованием флуоресцентного красителя DiBAC₄(3) (бис-(1,3-дибутилбарбитуровой кислоты)триметин оксонола). В качестве полностью деполяризованного контроля

использовали фиксированные клетки. В работе использовали моторизованный микроскоп AxioPlan 2 imaging MOT (Zeiss, Германия) с программным обеспечением AxioVision 4.2 (Zeiss, Германия), оснащенный цифровой камерой AxioCam HRc (Zeiss, Германия). Изучение динамики мембранного потенциала в процессе активации пыльцевого зерна позволило выявить гиперполяризацию мембраны вегетативной клетки, что хорошо согласуется с данными литературы об активации H⁺-АТФазы. В условиях блока анионных каналов NPPВ гиперполяризации не происходит. Это объясняет блок прорастания при действии NPPВ на пыльцевые зёрна. Вместе с тем, полученные данные позволяют предполагать важную роль хлоридных каналов в регуляции работы H⁺-АТФазы в пыльцевом зерне.

**Молекулярно-генетическое картирование гена *BRACTEA*,
участвующего в регуляции развития цветоноса у *Arabidopsis
thaliana***

Будаев Роман Александрович

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

e-mail: romanbudaev@gmail.com

На кафедре генетики МГУ выделен мутант *bractea* с соцветием в виде закрытой брактеозной кисти, в отличие от соцветия без терминального цветка и прицветных листьев (брактеей) у дикого типа. Целью работы было картирование гена *BRA*. Ранее ген *BRA* был локализован в конце правого плеча 4 хромосомы. Для точной локализации проведено молекулярно-генетическое картирование с использованием CAPS-маркеров, выявляющих рестрикционный полиморфизм амплифицированных последовательностей ДНК.

Для расы Dijon, к которой принадлежит исследуемый мутант, не было известно ДНК-маркеров, расположенных в районе гена *BRA*. На I этапе проанализировано состояние у расы Dijon известных маркеров, локализованных в нужном районе (ATMYB3R: 82.27 сМ на RI карте/15792 т.п.н. на физической карте, и CAT2: 85.75 сМ на RI карте/16702 т.п.н. на физической карте), выявляющих полиморфизм между расой Columbia и линией Leg. Установлено, что состояние молекулярных маркеров у расы Dijon аналогично линии Leg, поэтому молекулярное картирование проводили на растениях поколения F₂ от скрещивания мутанта с расой Columbia. Проанализировано 79 растений

по маркеру АТМУВ3R и 202 растения по САТ2. Обнаружено 6 рекомбинантных хромосом по АТМУВ3R (расстояние до гена *BRA* 3.66 ± 0.75 сМ) и две по САТ2 (расстояние до гена *BRA* $0,49 \pm 0,17$ сМ). Ген *BRA* тесно сцеплен с маркером САТ2.

Созданы дополнительные маркеры в районе маркера САТ2, выявляющие полиморфизм между расами Dijon и Columbia: SGCSNP232 (CAPS-маркер, 16538 т.п.н. на физической карте), и SNP13203: (dCAPS-маркер, 16648 т.п.н. на физической карте). По этим маркерам не обнаружено рекомбинантных хромосом, что свидетельствует об их тесном сцеплении с исследуемым геном *BRA*.

Ген *BRA* локализован слева от маркера САТ2 на расстоянии $0,49 \pm 0,17$ сМ. По нашим данным, полученным для маркеров АТМУВ3R и САТ2, 1 сМ на RI-карте в этом районе хромосомы соответствует 206,3 т.п.н., т.е. ген *BRA* локализован в пределах 16531 – 16636 т.п.н., что соответствует участку клона М4Е13. В картированном участке, протяженностью в 105 т.п.н., расположено 34 гена. Полученные результаты позволяют перейти к позиционному клонированию гена *BRA*.

Оценка наследуемости уровня метаболизма покоя у птенцов мухоловки-пеструшки (*Ficedula hypoleuca*)

Бушув Андрей Владимирович,

инженер I категории

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: a_bushuev@mail.ru

Постоянную часть суточного расхода энергии гомойотермных животных составляют затраты на базальный метаболизм. Согласно современным представлениям, животное с более высоким уровнем базального метаболизма (BMR) способно поддерживать в течение длительного времени более высокий уровень внешней работы. Попытки оценить степень наследуемости (h^2) различных энергетических параметров животных предпринимались редко и результаты их довольно противоречивы. В данной работе мы попытались оценить наследуемость метаболизма покоя (RMR) у птенцов представителя отряда воробьинообразных птиц – мухоловки-пеструшки (МП).

Окраска брачного оперения самцов МП может варьировать от контрастной черно-белой до невзрачной буровато-серой. Одна из уникальных особенностей полиморфизма МП состоит в том, что BMR самцов связан с их окраской (он больше у темных птиц), а сама окраска

предположительно наследуется. Кроме того, была продемонстрирована связь окраски самцов МП с RMR их птенцов на асимптотической стадии роста, причем эта связь не объяснялась различиями в темпах роста птенцов (Bushuev et al., 2003). О возможном наследовании птенцами МП энергетических показателей их родителей говорит найденная положительная корреляция уровня метаболизма птенцов и взрослых птиц (Bushuev et al., 2003). Для того чтобы оценить влияние среднего эффекта на RMR птенцов, мы провели эксперимент по перекладке яиц. Он состоял в обмене гнезд МП полными кладками. Кладки во всех участвовавших в эксперименте гнездах находились на одной стадии насиживания. Гнезда, яйца в которых не перекладывали, служили контролем.

Наследуемость RMR у птенцов мы оценивали при помощи дисперсионного анализа (т.н. анализ полных sibсов) и по наклону линии регрессии (BMR самца – среднее значение RMR его родных птенцов).

метод	тип выводка	n	F	p	h ² ±SE
регрессия	контрольный	37 выводков	8.41	0.004	0.59±0.20
отец-птенец	экспериментальный	36 выводков	7.50	0.03	0.39±0.14
анализ sibсов	контрольный	159 шт. (71 выв.)	1.74	0.007	0.50±0.13
	экспериментальный	174 шт. (61 выв.)	2.21	0.0001	0.61±0.16

В отличие от родных корреляция BMR самцов и RMR их приемных птенцов отсутствовала ($p > 0.3$). В этом случае родительский эффект незначительно влияет на становление уровня метаболизма птенцов. Если использовать в статистическом анализе потомство только светлых или только темных самцов, то оценки наследуемости не уменьшаются ($h^2 = 0.40-0.63$).

Проведенные исследования показали, что уровень метаболизма покоя птенцов мухоловки-пеструшки наследуется независимо от типа окраски оперения отца.

**Поиск мутаций и полиморфизмов в гене фибриллина-1 (*FBNI*) у
больных синдромом Марфана**

Валиев Р.Р., Хусаинова Р.И., Кутуев И.А., Хуснутдинова Э.К.

Сотрудник, кандидат биологических наук

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.

Уфа

ruslan_valiev@mail.ru

Для синдрома Марфана (СМ) характерными особенностями являются высокий процент спорадических случаев (25-30%), которые обуславливаются мутациями *de novo*, варьирующая экспрессивность и неполная пенетрантность. Основная причина заболевания – мутации в гене фибриллина-1 (*FBNI*), локализованного на длинном плече 15 хромосомы (15q21.1). Продуктом гена *FBNI* является фибриллин-1 – главный компонент микрофибриллярной системы межклеточного вещества соединительной ткани.

Целью работы явилось изучение гена *FBNI*, как основного гена-кандидата, мутации в котором приводят к развитию СМ. Использованы образцы ДНК 75 больных с клиническим диагнозом «синдром Марфана» из 71 семьи, а также 67 членов их семей разной этнической принадлежности. В контроль отобраны 57 здоровых индивидов с отсутствием клинических проявлений патологии соединительной ткани. Проведен скрининг мутаций в 30 (1-4,15,18,24-40,59-65) экзонах гена фибриллина-1 (*FBNI*) у 60 больных СМ. При анализе конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (SSCP-анализ) выявлено 52 случая изменения подвижности одноцепочечной ДНК в 12 экзонах гена *FBNI*. В 18 экзонах SSCP-анализ изменений подвижности не выявил. В 45 случаях секвенирование выявило изменения в нуклеотидной последовательности гена *FBNI*. Изменения локализованы преимущественно в центральных (24-28) и концевых экзонах (60,62,65) гена фибриллина-1, что подтверждает повышенную мутабельность данных регионов гена согласно литературе. Функционально значимыми оказались 2 изменения, приводящие к заменам консервативных аминокислотных остатков в Ca-связывающих доменах белка (G1176R; C2489Y). Они классифицируются как миссенс-мутации, по характеру последствий – как доминантно-негативные мутации. В литературе эти мутации не описаны. В ходе скрининга обнаружено 9 полиморфизмов в кодирующих и некодирующих регионах. Наиболее часто встречаемыми у больных СМ были полиморфизмы 1875T>C (40%) и IVS28+15del(TTTTA)_n (15%), расположенные в 15-ом экзоне и в 28-ом

интроне, соответственно. Для проверки их значимости проведено изучение данных локусов в группе здоровых индивидов. Выявлены достоверные различия в распределении частот аллелей полиморфизма 1875T>C у больных СМ с пролапсом митрального клапана, являющимся одним из критериев заболевания по сравнению с контрольной группой здоровых индивидов ($\chi^2=4,28$; $df=1$, $p=0,038$). Аллель *FBN1**C является генетическим фактором риска (Odds ratio=2,3; 95%CI=1,04-5,1) развития пролапса митрального клапана у больных СМ.

Изучение окислительного стресса и участия в нем митохондрий при ишемии /реоксигенации культуры клеток почки.

Васильева Алена Константиновна, Плотников Е.Ю., Зоров Д.Б.

студент биологического факультета, научный сотрудник НИИФХБ им.

А.Н.Белозерского, профессор НИИФХБ им. А.Н.Белозерского.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: vasileva.alena@gmail.com

Важным звеном в процессах, которые направляют перенесшие гипоксию клетки на путь клеточной гибели или выживания, являются митохондрии. Выбранная модель ишемии/реоксигенации клеток почки представляет особенный интерес в связи с тем, что опосредованные окислительным стрессом заболевания почек достаточно распространены. Необходимость остановки кровотока при операциях на почке делает чрезвычайно востребованным изучение механизмов окислительного повреждения и стратегий защиты от него применительно именно к почечной ткани, которой в изучении данного вопроса уделяется значительно меньше внимания, чем сердечной и мозговой ткани.

Первичную культуру клеток почки получали от крыс возрастом до 14 дней за 2-4 дня до помещения клеток в гипоксические условия. Клетки почки подвергали гипоксии в присутствии или отсутствии глюкозы в среде. Мы исследовали влияние гипоксии и гипоксии совмещенной с глюкозной депривацией (ишемии) и последующей реоксигенации на жизнеспособность клеток. Для оценки гибели клеток использовали стандартный МТТ тест и подсчет ядер клеток, окрашенных Hoechst 33342, с помощью флуоресцентной микроскопии. Было показано, что сама по себе гипоксия практически не вызывает гибели клеток, в то время как ишемия приводит к гибели до 50% клеток во время периода реоксигенации. С помощью конфокальной микроскопии при

окрашивании зондом на активные формы кислорода 2,7-дихлорфлуоресцеином (DCF), было выявлено повышенное образование активных форм кислорода в течение нескольких минут после начала реоксигенации. Генерация АФК носит транзитный характер и затухает в течение часа. Исследование морфологии митохондрий с помощью флуоресцентного красителя тетраметилродамина (TMRE), показали, что после ишемии/реоксигенации происходит дробление митохондриальной сети клеток почки. Если в контроле митохондрии имеют вид длинных нитевидных структур, то в клетках подвергавшихся ишемии и реоксигенации митохондрии имеют палочковидную или сферическую форму. Исследование локализации генерации активных форм кислорода методом двойного окрашивания клеток почки TMRE и DCF показало колокализацию продукции АФК и митохондрий. Это говорит о том, что митохондрии являются основным источником АФК при развитии окислительного стресса, вызванного ишемией/реоксигенацией. Таким образом, было выявлено, что ишемия/реоксигенация вызывает гибель клеток почки, очевидно связанную с развитием окислительного стресса. При этом образование АФК происходит в основном в митохондриях и сопровождается нарушением их пространственной структуры.

**Влияние условий культивирования на устойчивость инфузорий к
солям тяжелых металлов**

Васин Антон Евгеньевич

аспирант

Самарский государственный университет, Самара, Россия.

E-mail: yanton@samtel.ru

Нами было проведено исследование влияния различных методик культивирования на устойчивость инфузорий рода *Paramecium* (*P. caudatum*, *P. multimicronucleatum* и *P. aurelia*) к нитратам Cd, Ni, Hg и Zn. Оценивалась влияние условий культивирования на устойчивость инфузорий в остром и хроническом эксперименте. Оценивалось влияние таких условий культивирования как: состав среды, объем культиваторов и методы культивирования. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью непараметрических критериев Краскела-Уоллиса (H-критерий), Q-критерия Розембаума и U-критерия Манна-Уитни.

При оценке влияния состава среды сравнивались органические среды полученные на основе сенного и дрожжевого отвара. Анализ

результатов показал достоверное различие результатов полученных на культурах содержащихся на сенном отваре в зависимости от источников сырья для его получения как в остром так и хроническом эксперименте. При оценке влияния объема культиваторов на результаты экспериментов сравнивалась устойчивость культур выращенных в объемах 2000 мл, 500 мл, 300 мл, 50 мл, 10 мл, 1 мл. Анализ полученных результатов не показал достоверного влияния объема культиватора на изменения реакций инфузорий на модельные токсиканты в остром эксперименте. Опыты показали, что объем культиваторов важен при хронических экспериментах, в которых критерием оценки чувствительности инфузорий служит плотность культуры.

При оценке влияния методов культивирования сравнивались методы периодического и полунепрерывного культивирования. Анализ результатов показал, что при периодическом культивировании чувствительность инфузорий к тяжелым металлам зависит от возраста культуры, что соответствует литературным данным. При полунепрерывном культивировании влияние возраста культуры на ее устойчивость недостоверно.

**Изучение частоты СПИД-протекторных генов CCR2 и CCR5 в
группе этнически чистых шорцев Алтае-Саянского нагорья
Васинская Ольга Алексеевна, Корниасова Наталья Александровна**
Студенты

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия
E-mail: LMB2001@mail.ru

Для проникновения в CD4 Т-клетки вирусу ВИЧ необходимо дополнительное взаимодействие с корецепторами, в роли которых выступают некоторые хемокиновые рецепторы (рецептор CCR2 и CCR5). Описана зависимость риска инфицирования и темпов манифестации заболевания от особенностей организации хемокиновых рецепторов. В результате мутаций генов CCR2 и CCR5 в клетках происходит трансляция неактивного рецептора. Это приводит к тому, что вирус утрачивает способность проникать в клетку. В ряде исследований установлена разная частота встречаемости мутантных вариантов генов CCR2 и CCR5 у представителей разных этнических групп, что может обуславливать различную восприимчивость к ВИЧ. Работа посвящена изучению частоты встречаемости носителей гомозиготных и гетерозиготных вариантов СПИД-протекторных генов в

группе этнически чистых шорцев. Шорцы – коренной малочисленный народ, проживающий в основном на юге Кузбасса.

Материал для анализа собран в ходе экспедиций 2004-2005 гг. на территории Горной Шории. Собрано 60 образцов ДНК от этнически чистых неродственных шорцев. Выделение ДНК осуществляли на базе Института экологии человека СО РАН (г. Кемерово). Типирование ДНК проводили в МГНЦ РАМН (г. Москва). Результаты исследования частоты встречаемости нормальных и мутантных генов CCR2 и CCR5 представлены в таблице 1.

Таблица 1. Частота мутаций в гене CCR2 в группе этнически чистых шорцев

Гены Генотипы	CCR5 % ± m	Ген Генотипы	CCR2 % ± m
ii	58.62 ± 6.52	GG	42.86 ± 6.67
id	36.21 ± 6.37	AG	42.86 ± 6.67
dd	5.17 ± 2.93	AA	14.29 ± 4.72

Влияние экологических факторов на сезонный рост *Picea abies* L. (Karst.) в северной Карелии

Вантенкова Ирина Викторовна

Аспирант второго года обучения, без степени

Петрозаводский Государственный Университет, эколого – биологический факультет, Петрозаводск, Россия.

E-mail: irinavantenkova@yandex.ru

Изучение влияния климатических факторов на сезонный рост лесообразующих видов хвойных имеет практический и теоретический интерес. В условиях Карелии подобные исследования в отношении ели европейской до сих пор не проводились.

Исследования проводили в 2002–2003 гг. на севере Карелии (средняя подзона тайги). Объектом служил еловый древостой наиболее распространенного в данном регионе типа леса – ельника черничного. Его таксационная характеристика: возраст – 78 лет, состав пород – 8Е2Б, средняя высота – 17 м, средний диаметр стволов – 22 см, число стволов 1571 шт/га, полнота – 0.9, запас древесины – 175 м³/га.

На каждой пробной площади сезонный рост побегов, хвои и стволов у деревьев, занимающих среднее положение в пологе леса, изучали по методике А. А. Молчанова и В. В. Смирнова. Показано, что начало роста побегов у ели европейской тесно связано с температурой воздуха,

среднесуточная величина которой к этому времени повышается примерно до +9 °С. В связи с изменчивостью погодных условий начало их роста в разные годы приходится на разные календарные даты (26.V – 28.V).

В дальнейшем интенсивность роста побегов также связана с температурой воздуха. При значительном её повышении отмечается и более интенсивный рост побегов.

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы:

1. Первыми в конце мая трогаются в рост побеги, спустя неделю появляется хвоя и начинается деление клеток камбия ствола. Кульминация и прекращение роста происходит в июле в следующей последовательности: побеги, хвоя и стволы. Продолжительность роста вегетативных органов составляет от 53 до 79 сут.

2. Рост побегов ели европейской начинается при повышении среднесуточной температуры примерно до 9 °С, стволов – 12 °С, хвои – 16 °С.

3. Температура воздуха не лимитирует время прекращения роста побегов. Формирование хвои и древесины стволов прекращается при понижении температуры воздуха до 7–10 °С.

4. Годичный прирост побегов и хвои в длину составляет соответственно 65 мм и 23 мм, а стволов по радиусу – 3.3 мм.

Изменение активности ведущего края фибробластов в результате их трансформации онкогеном *N-RAS*

Ваулина Мария Евгеньевна

студент

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, г. Москва, Россия

E-mail: marusyav@list.ru

Поскольку первым и одним из важнейших этапов движения клетки служит образование протрузий на ее ведущем крае, основной целью нашей работы было изучить изменения динамики активного края клетки при трансформации.

В качестве модели мы использовали мышинные фибробласты линии 10(3) и 10(3)Ras - трансформированные мышинные фибробласты линии, полученной путем трансфекции мутантного постоянно активированного онкогена *N-RAS* в клетки исходной линии 10(3).

С помощью иммунофлуоресценции мы исследовали морфологию и строение цитоскелета этих клеток и показали, что трансформированные

клетки более узкие и вытянутые. Кроме того, у трансформированных клеток в значительной степени редуцируются актиновые пучки, а также заметно уменьшается число и размер фокальных контактов. Эти результаты хорошо согласуются с литературными данными. Следует также отметить, что у трансформированных клеток существенно чаще, чем у нормальных, наблюдалось яркое окрашивание актина на активном крае, соответствующее раффлам.

Для выявления различий в поведении активного края клеток мы использовали их миграцию в экспериментальную рану. У клеток, активно выползающих в рану, измеряли длину активного края, площадь и количество отдельных протрузий и ретракций на нем. На основе полученных данных были подсчитаны средние скорости протрузий и ретракций, характеризующих псевдоподиальную активность. При наблюдении через 2 часа после нанесения раны средние скорости протрузий и ретракций были высокими как в случае *RAS*-трансформированных (протрузии 10.7нм/с, ретракции 9.3нм/с), так и в случае нормальных клеток (протрузии 14.7нм/с, ретракции 11.7нм/с). Через 24 часа после нанесения раны псевдоподиальная активность трансформированных клеток оставалась на том же уровне (протрузии 9.3нм/с, ретракции 7.3нм/с), а у нормальных клеток снизилась в 2.5-3.5 раза (протрузии 5.7нм/с, ретракции 3.3нм/с). Для дополнительной характеристики движения края мы ввели понятие «нестабильность края», показывающее частоту смены направления активности – протрузии на ретракцию или наоборот. Оказалось, что нестабильность края у клеток 10(3)*RAS* выше, чем у нормальных 10(3) клеток.

Таким образом, было показано, что сразу после активации клеток в результате нанесения раны краевая активность нормальных и трансформированных клеток была сходной. Повышенная активность и нестабильность края у трансформированных клеток по сравнению с нормальными через 24 часа после нанесения раны может объясняться постоянной активацией метаболических путей онкогеном *Ras*. Отсюда следует, что *RAS*-трансформация оказывает существенное влияние на морфологию и поведение активного края.

Динамика изменений миографических показателей у девочек в зависимости от уровня полового развития

Вахтанова Г.М.

старший преподаватель

Владимирский государственный педагогический университет,
естественно-географический факультет, Владимир, Россия

e-mail: fisiology@vgpu.vladimir.ru

В период полового созревания происходит перестройка мотонейронного аппарата, наблюдается деавтоматизация, в результате изменяются взаимоотношения между уровнями действия и фоновыми уровнями.

Нервно-мышечная система на этом возрастном этапе претерпевает значительные изменения, что нашло отражение в результатах проведенного нами миографического исследования.

Комплексная оценка функционального состояния нервно-мышечной системы возможна при сочетании основных миографических методик и исследования F-волны.

Целью исследования было изучение возрастной динамики параметров, характеризующих проводящие элементы срединного и локтевого нервов, функциональное состояние мотонейронов спинного мозга у девочек разного биологического возраста.

Для определения функционального состояния нейромоторного аппарата методом F-волны было обследовано 85 девочек в возрасте от 10 до 17 лет. Анализировались латентность F-волны (минимальная, максимальная, средняя, тахеодисперсия), скорость проведения возбуждения (минимальная, максимальная, средняя, тахеодисперсия), количество гигантских волн при стимуляции срединного и локтевого нервов. Стадии полового созревания оценивали по методике J. Tanner.

При сравнительном анализе всех показателей латентности между девочками разного биологического возраста были получены изменения минимальной, максимальной и средней латентности между инфантильной стадией и стадией окончательного полового созревания в сторону увеличения показателей по обоим нервам.

Скорость проведения возбуждения F-волны локтевого нерва достоверно увеличивается от стадии полового инфантилизма до стадии активизации гонад. В дальнейшем же скорость проведения возбуждения в проксимальных отделах локтевого нерва у девочек от стадии максимального стероидогенеза к стадии окончательного формирования изменяется недостоверно, что указывает на физиологическое созревание структур локтевого нерва к стадии максимального стероидогенеза.

Скорость проведения импульса по срединному нерву напротив, носит достоверный характер различий между стадией максимального стероидогенеза и стадией окончательного полового созревания.

При количественном анализе гигантских F-волн мы выяснили, что к стадии максимального стероидогенеза наблюдается увеличение числа волн с максимальной амплитудой, что свидетельствует о повышении возбудимости мотонейронов спинного мозга на этой стадии полового созревания.

Таким образом, полученные результаты позволяют считать половое созревание ведущим фактором развития скорости проведения возбуждения срединного и локтевого нервов, что связано с ролью гормонального фактора в пубертатных перестройках двигательных единиц.

**Особенности внешнего дыхания у юношей-студентов Северного
международного университета**
Вдовенко Сергей Игоревич

аспирант

Международный научно-исследовательский центр «Арктика» ДВО
РАН, г. Магадан,

685000, К.Маркса 24, МНИЦ “Арктика” ДВО РАН

Email: Arktika@online.magadan.su

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей внешнего дыхания юношей г. Магадана и сравнение их с должными величинами.

В исследовании принимали участие юноши-студенты Северного Международного Университета в возрасте 17-21 года, длительно проживающие в условиях Северо-Востока России. Всего было обследовано 196 человек. Исследования проводили в ноябре-декабре 2005 года в помещении в состоянии полуосновного обмена. Обследуемые юноши имели физическую нагрузку лишь на занятиях физической культуры. У испытуемых фиксировали основные антропометрические параметры: длину и массу тела, окружность грудной клетки, а также динамометрию кистей рук и становую силу. Параметры внешнего дыхания определяли на компьютерном спирографе КСП-1 в открытой системе по принципу «объем-поток». Показатели регистрировали в положении стоя при максимальном вдохе и спокойном выдохе; при максимальном вдохе и форсированном выдохе с зажатым носом. Физиологическую оценку функционального

состояния дыхательной системы обследуемых проводили на основании анализа 14 показателей внешнего дыхания.

Как показали проведенные исследования (см. таблицу), между юношами 17-21 года не наблюдается достоверных различий по длине тела. Масса тела у юношей 18-19 лет достоверно выше, чем у юношей 17 и 20 лет. Окружность грудной клетки увеличивается по мере увеличения возраста юношей. Аналогичная тенденция наблюдается в отношении силы кистей рук и становой силы. Жизненная емкость легких у юношей находится на уровне должных величин и колеблется в пределах 4.94 ± 0.13 – 5.42 ± 0.19 л. Это косвенно может свидетельствовать об отсутствии нарушений функции внешнего дыхания по рестриктивному типу. Существенных возрастных различий по основным объемно-временным показателям внешнего дыхания не выявлено. Показатель $MOC_{25\%}$ (мгновенной объемной скорости на уровне 25% форсированного выдоха) у юношей всех возрастных групп находится в пределах должных величин, а $MOC_{50\%}$ несколько ниже должных показателей, что в целом может свидетельствовать о нормальной проходимости крупных и средних бронхов. Однако показатель $MOC_{75\%}$, характеризующих проходимость мелких бронхов на 36-50% превышает должные величины. Существенное повышение проходимости мелких бронхов указывает на отсутствие обструктивных нарушений дистальных участков бронхиального дерева и является адаптационным механизмом, необходимым как для согревания вдыхаемого воздуха, так и улучшения газотранспортной функции при длительной адаптации человека в условиях Севера.

Исследование функциональных и структурных изменений в клетках листа пшеницы при холодном закаливании

Венжик Ю.В., Фролова С.А., Титов А.Ф.

Институт биологии КарНЦ РАН, г. Петрозаводск, Россия

venzhik@bio.krc.karelia.ru

На проростках пшеницы морозостойкого сорта Московская-39 изучали функциональные и структурные изменения в клетках мезофилла листа, обеспечивающие формирование повышенной устойчивости при холодом закаливании.

Исследование показало, что под влиянием температуры 4 °С устойчивость проростков значительно возрастает, достигая в заданных условиях своего максимального уровня уже к концу вторых суток закаливания. При этом в клетках мезофилла листа происходят

существенные функциональные и структурные изменения. Так, уже через 1 ч от начала холодого воздействия отмечено снижение скорости транспорта электронов, свидетельствующее о частичной инактивации фотосистемы II. Одновременно происходило усиление нефотохимического тушения, которое считается безопасным способом диссипации избыточной световой энергии в стрессовых условиях. Наряду с этим зафиксировано некоторое увеличение содержания каротиноидов, участвующих в защите фотосинтетического аппарата от деструктивного действия низкой температуры. Заметное увеличение содержания хлорофиллов, наблюдаемое через 5 ч от начала закаливания, видимо, связано с необходимостью поддержания соответствующей интенсивности фотосинтеза в условиях пониженной температуры. Зарегистрированное через 48 ч закаливания увеличение размеров клетки обусловлено, скорее всего, с некоторым ростом объема цитоплазмы вследствие снижения вакуолизации клетки, при этом вода переходит из вакуоли в цитоплазму, где она связывается гидрофильными соединениями, уменьшая тем самым вероятность образования внутриклеточного льда в условиях отрицательной температуры.

Таким образом, под влиянием закаливания клетки растения приобретают качественно новую структурно-функциональную организацию, которая позволяет растениям выживать в условиях неблагоприятных температур.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 05-0497515с) и Федерального агентства по науке и инновациям (гранты 2005-РП-111.0/001/058 и 2005-РП-111.0/001/057).

Особенности вентиляции легких и газообмена у курящих и некурящих мужчин

Визирь Яна Георгиевна

Студент

Тверской государственный университет, биологический факультет,
Тверь, Россия

E-mail: yana.vizir@mail.ru

Целью настоящего исследования было изучение влияния на вентиляцию легких и газообмен человека хронического курения, а также непосредственного влияния процесса курения на систему дыхания курящего. В исследовании участвовали 10 курящих молодых и 10 некурящих молодых мужчин. Вентиляция легких и газообмен изучались

при спонтанном дыхании, гипервентиляции и задержке дыхания. Регистрация дыхательных параметров у курящих мужчин производилась до, и после курения.

При спонтанном дыхании параметры вентиляции и газообмена у курящих и некурящих людей практически не различались. Минутный объем вентиляции легких и концентрация углекислого газа в альвеолярном воздухе курящих и некурящих соответствовали норме. Частота дыхания у курящих была несколько меньше, чем у некурящих. В то же время у курящих отмечен незначительно больший дыхательный объем. После курения наблюдалось увеличение вентиляции легких за счет прироста дыхательного объема, также отмечено увеличение скорости выделения CO_2 . Таким образом концентрация CO_2 в альвеолярном воздухе сохранилась на прежнем уровне. При гипервентиляции также не было отмечено достоверных различий между параметрами вентиляции легких и газообмена курящих и некурящих мужчин. Прирост объема вентиляции легких, как у курящих, так и у некурящих, осуществлялся за счет увеличения дыхательного объема, тогда как частота дыхания практически не менялась. Гипервентиляция сопровождалась увеличением скорости выделения CO_2 и снижением концентрации углекислоты в альвеолярном газе. После курения отмечена тенденция к снижению гипервентиляции, как за счет дыхательного объема, так и частоты дыхания. Менее интенсивная гипервентиляция обуславливала и меньшую скорость выделения углекислого газа, а соответственно и большую концентрацию CO_2 в альвеолярном газе.

Время задержки дыхания у курящих было несколько больше чем у некурящих. Поскольку время задержки у некурящих было несколько меньше, скорость накопления CO_2 во время произвольного апноэ у некурящих выше, чем у курящих. Количество CO_2 , выдыхаемое при первом выдохе после задержки, у курящих было несколько больше, чем у некурящих. После курения время задержки дыхания снизилось, т.к. срыв произошел при меньшей концентрации CO_2 в альвеолярном газе.

Таким образом, если хроническое курение не вызывает достоверных изменений вентиляции легких и газообмена, то сам процесс курения инициирует увеличение скорости выделения углекислого газа, что является причиной как гиперпноэ при спонтанном дыхании, так и уменьшения времени произвольной задержки дыхания. Меньшая интенсивность гипервентиляции после курения говорит о снижении работоспособности дыхательной мускулатуры.

**Структура ценопопуляций *Hepatica nobilis* Mill. на территории
Звенигородской биостанции МГУ
Виляева Наталья Александровна**

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: natvyl@yandex.ru

Исследования проводились летом 2004 г. на территории Звенигородской биостанции МГУ. Изучена структура ценопопуляций и уточнены характеристики возрастных состояний (табл. 1) печёночницы обыкновенной *Hepatica nobilis* Mill. Этот вид занесён в Красную книгу Московской области.

Табл. 1. Морфометрические признаки онтогенетических состояний *H. nobilis*

возрастное состояние	j	im	v	g1	g2	g3
Число почек на корневище*	1	1	1	1	1,1	$\frac{4}{3-6}$
Число листьев*	1	1.8	2.1	2	$\frac{4.3}{3-8}$	$\frac{10.6}{4-19}$
Число цветков*	0	0	0	1	$\frac{4.6}{1-11}$	$\frac{6.5}{2-22}$
Длина листа, мм	$\frac{16\pm 0.8}{9-23}$	$\frac{27\pm 0.9}{14-38}$	$\frac{34\pm 1}{27-42}$	$\frac{34\pm 0.6}{28-46}$	$\frac{38\pm 0.5}{29-50}$	$\frac{23\pm 0.6}{17-37}$
Ширина листа, мм	$\frac{31\pm 1.5}{14-43}$	$\frac{52\pm 1.8}{27-72}$	$\frac{66\pm 1.6}{55-79}$	$\frac{65\pm 1}{54-88}$	$\frac{72\pm 0.8}{50-94}$	$\frac{43\pm 1.3}{32-70}$
Длина черешка, мм	$\frac{52\pm 2.8}{23-83}$	$\frac{89\pm 4.2}{28-143}$	$\frac{108\pm 5}{65-134}$	$\frac{113\pm 2.2}{79-150}$	$\frac{121\pm 1.9}{74-173}$	$\frac{89\pm 2.8}{54-158}$

*примечание: среднее число на особь. Дробь: в числителе – среднее \pm ошибка среднего, в знаменателе – минимальное и максимальное значения.

Для ценопопуляций *H. nobilis* характерен правосторонний спектр с преобладанием средневозрастных генеративных особей (>50%) и довольно сильным разбросом значений. В ельнике разнотравном ювенильных особей меньше 10% - ценопопуляцию можно назвать стареющей, однако такого числа ювенильных растений видимо достаточно для поддержания ценопопуляции, к тому же у *H. nobilis* большая продолжительность жизни. У этой ценопопуляции наибольший показатель возрастности 0.58, что указывает на большой относительный возраст ценопопуляции. В ельнике зеленчуково-кисличном ценопопуляцию можно назвать молодой: наблюдается большой процент ювенильных и имматурных особей, показатель возрастности 0.34. Так

как этот участок располагается на краю большой популяции, вероятно, здесь идёт расселение *H. nobilis*. В разреженном ельнике печёночницево-кислично-костяниковом наименьший показатель возрастности ценопопуляции 0.32 и, видимо, наилучшее возобновление: в 2004 году наблюдалось 27 % ювенильных особей. Вероятно, это связано с большой освещённостью и отсутствием *Carex pilosa*, переплетающиеся корневища которой часто мешают укоренению всходов печёночницы.

Флуктуирующая асимметрия листа рдеста пронзеннолистного как индикационный показатель качества водной среды

Власова Елена Анатольевна,

студентка 3 курса каф. ихтиологии;

Федорова Татьяна Анатольевна,

Старший преподаватель каф. высших растений;

Щербаков Андрей Викторович,

Старший научный сотрудник каф. высших растений.

Биологический ф-т МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

119992, Москва, МГУ, Биологический ф-т, каф. высших растений;

vl_helen@mail.ru

В последние годы широко обсуждаются методы биоиндикации, основанные на вычислении коэффициента флуктуирующей асимметрии организмов или их органов, характеризуются простотой и минимальными затратами.

Целью работы была проверка методики, предлагающей использовать для индикации качества вод флуктуирующую асимметрию листьев рдеста пронзеннолистного (*Potamogeton perfoliatus* L., *Potamogetonaceae*). Этот вид широко распространен по территории страны и по разным типам водоемов, и поэтому может считаться удобным объектом для биоиндикации.

Вычислены коэффициенты флуктуирующей асимметрии 10-х от верхушки побегов листьев *P. perfoliatus* для 3 выборок: из чистой воды на слабом течении (р. Москва выше г. Звенигорода Московской обл.), из чистой воды на сильном течении (там же) и из загрязненной воды на слабом течении (р. Пахра ниже г. Подольска Московской обл.). Каждая выборка насчитывала 100 листьев, измерения производились по 10 параметрам. Для количественных расчетов достоверности полученных результатов использовались методы дисперсионного анализа.

Результаты существенно разошлись с литературными данными и свидетельствовали, что в загрязненной воде листья рдеста более симметричны, чем в чистой. Вероятно, при разработке этой методики не учтены влияние характера течения воды на формирование листа и асимметрия листа в пределах нормы реакции. Рдест пронзеннолистный в работе не подтвердил по этому показателю индикационных качеств и не может быть использован в качестве индикатора качества водной среды. По литературным данным, более ранние наблюдения в Подмосковье не выявили индикационных свойств у этого вида на популяционном уровне.

Характер взаимодействия нуклеозиддифосфаткиназы наружного компартмента митохондрий с наружной митохондриальной мембраной и особенности её функционального сопряжения с системой окислительного фосфорилирования

Воинова Вера Владимировна

аспирант

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова,

Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: VeraVoinova@mail.ru

Ранее было показано, что вся нуклеозиддифосфаткиназа наружного компартмента митохондрий (мНДФК) локализована на внешней поверхности наружной мембраны; в митохондриях присутствуют 2–3 фракции мНДФК, различающиеся прочностью взаимодействия с мембранами.

Исследовано влияние состава среды промывания на прочность взаимодействия мНДФК с мембранами. В условиях, когда суммарная осмотическая концентрация анализируемых сред была равна 280 мосМ, увеличение концентрации NaCl или KCl, повышение pH и добавление MgCl₂ к среде промывания митохондрий усиливали прочность взаимодействия мНДФК с мембранами. Добавление 1 мМ ЭДТА при pH 8,0 не уменьшало долю связанной мНДФК. Предполагается, что между мНДФК и мембраной существуют в основном гидрофобные взаимодействия; Mg²⁺ не участвует в связывании с мембранами; в области контакта мНДФК с мембранами возможно присутствие функциональной группы, появление заряда на которой снижает прочность взаимодействия.

Проанализированы 3 системы; в одной из них роль донора ADP играла мембраносвязанная мНДФК, а в двух других – обладающие такой же

активностью, но не связывающиеся с митохондриями дрожжевая нуклеозиддифосфаткиназа (дНДФК) и дрожжевая гексокиназа (дГК). Во всех 3 системах роль внешнего агента, конкурирующего за ADP с системой окислительного фосфорилирования, играла креатинкиназа (КК). В условиях, когда активность КК в 60 – 100 раз превосходила активность других киназ и системы окислительного фосфорилирования, и равенстве концентраций ADP и отношения АТР/ADP в среде инкубации, скорость дыхания митохондрий в системе с мНДФК составила 21% от скорости дыхания в отсутствие КК, а в системах с дГК и дНДФК – только 3 - 7%. Сделан вывод, что между мНДФК и системой окислительного фосфорилирования существует сопряжение.

Проанализированы 2 препарата митохондрий, исходная активность мНДФК в которых могла обеспечить высокую скорость окислительного фосфорилирования. При хранении первого препарата за пять часов солюбилизировалось менее 16% мНДФК, а второго – 70%. В обоих препаратах скорость дыхания митохондрий при избытке активности КК с течением времени не изменялась (20 % от скорости дыхания в отсутствие КК). Сделан вывод, что только часть активности мНДФК, обеспечивающая это остаточное дыхание, функционально сопряжена с системой окислительного фосфорилирования.

Разрушение ДМФ в воде штаммом *Pseudomonas putida* MK55

Волкова К.В.

младший научный сотрудник

ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

e-mail: ksenm@mail.ru

Диметилвый эфир орто-фталевой кислоты (ДМФ) широко применяется как пластификатор, растворитель, репеллент, а также используется при изготовлении косметики, смазочных материалов, тканей и пр. Вследствие несовершенства технологических процессов, а также из-за отсутствия прочных химических связей с полимерами, ДМФ может попадать в объекты окружающей среды. Наличие мутагенной и тератогенной активностей, способность накапливаться в живых организмах наряду с широким использованием его в промышленности является причиной пристального внимания к проблеме интенсификации процессов разрушения ДМФ.

Из почвы химического предприятия методом накопительных культур нами выделен микроорганизм-деструктор ДМФ, идентифицированный как *Pseudomonas putida*, штамм MK55. Кроме ДМФ в качестве

единственного источника углерода и энергии он может использовать о-фталевую кислоту, бензоат и протокатехат, но не утилизирует катехол, 3-метилбензоат, салицилат, изо- и терефталевую кислоты.

Выявлена активность фталат-4,5-диоксигеназы и катехол-1,2-оксигеназы. Наличие этих ферментов свидетельствует о расщеплении о-фталата через 4,5-диоксифталевую кислоту и карбокси-цис,цис-муконат. Показано, что расщепление ароматического кольца происходит в орто-положении.

Иммобилизация на носителях способствует удержанию бактерий-деструкторов в очистном сооружении. Закрепление микроорганизмов интенсифицирует процесс деструкции загрязняющего вещества, поскольку способствует созданию повышенных концентраций бактерий в малом объеме. Кроме того, иммобилизованные клетки лучше защищены от воздействия неблагоприятных факторов, менее чувствительны к токсичным субстратам и функционируют дольше свободноплавающих.

Установлено, что деструктивная активность клеток *Pseudomonas putida* MK55, иммобилизованных на лавсановом волокне, значительно выше, чем у свободноплавающих. Для разрушения 1% ДМФ в жидкой среде М9 свободноплавающими клетками требуется 72 часа, в то время как иммобилизация снижает время деструкции до 24 часов.

Содержание ДМФ в среде контролировали методом ЯМР-спектроскопии.

Проведенное исследование показало, что выделенная нами культура *Pseudomonas putida* MK55 способна чрезвычайно эффективно утилизировать диметилфталат –1% субстрата в жидкой минеральной среде полностью утилизируются иммобилизованными клетками уже за 24 часа, 2% – за 72 часа, 5% – за 264 часа, 10% разрушается за месяц на 60%.

Кроме того, выявлена высокая устойчивость *P. putida* MK55 к токсическому действию ДМФ: штамм способен выдерживать до 30% токсиканта в среде, хотя и не способен при этом его эффективно утилизировать. Следует отметить, что концентрации ДМФ, превышающие 2%, являются чрезвычайно высокими и могут наблюдаться в сточных водах предприятий лишь при аварийных выбросах.

Высокая деструктивная активность данного микроорганизма, а также значительная устойчивость к токсическому действию ДМФ предполагает возможность его использования в биотехнологиях локальной очистки сточных вод, содержащих ДМФ.

Исследование динамики ламина В1 в S-фазе клеточного цикла

Галимов Артур Рафаэлевич

Студент

Посвятенко Александра Викторовна

Студент

Курчашова Светлана Юрьевна,

Младший научник сотрудник

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

Urrsus@gmail.com

Некоторые локусы гетерохроматина способны изменять свое положение в интерфазе, в частности, при репликации. В связи с этим можно предположить, что ламина меняет свою структуру при перемещении хроматина.

Для исследования поведения ламины на разных стадиях S-фазы мы использовали клетки культуры СПЭВ, трансфицированные плазмидами MRFP-Lamin B1 и EGFP-PCNA. В ходе эксперимента мы наблюдали изменения в однородности и форме ламины, а также образование специфических ламиновых структур в виде каналов и тяжей, соответствующие разным стадиям S-фазы. Наибольшие изменения характерны для средней S-фазы, в которой начинается репликация периферического гетерохроматина.

Для изучения динамики ламины в связи с предрепликационным перемещением хроматина мы исследовали клетки, несущие искусственную вставку гетерохроматина (HSR), демонстрирующую определенную последовательность изменений в процессе репликации (Li et al., 1998). Мы обнаружили образование ламиновых тяжей, граничащих с HSR при его деконденсации и перемещении внутрь ядра, где происходит его репликация, тогда как до середины S-фазы, когда он локализуется на периферии ядра, такие структуры не наблюдаются.

Динамика ламины в связи с репликацией возможна не только с точки зрения изменений архитектуры и формы, но и на молекулярном уровне. Этот аспект динамики был исследован с помощью FRAP-анализа. Клетки культуры СПЭВ, трансфицированные плазмидой EGFP-Lamin B1, подвергались фотообесцвечиванию, затем регистрировалось восстановление флуоресценции, которое можно интерпретировать как встраивание ламина B1 в состав ламины. В асинхронной культуре восстановление флуоресценции происходит с различной скоростью, и мобильная фракция ламина B1 варьирует от 20 до 70%, что позволяет

предположить зависимость этого процесса от стадии клеточного цикла. В дальнейшем предполагается с использованием двойной трансфекции плазмидами EGFP-ламин В1 и mRFP-PCNA изучить скорости восстановления флюоресценции на различных стадиях S-фазы. Таким образом, репликация периферического гетерохроматина сопровождается образованием внутриядерных ламиновых структур, участвующих в предрепликационном перемещении хроматина, и изменением мобильности ламина В1 в составе ламинины.

Использование индивидуального пространства самцами скальной ящерицы (*Lacerta saxicola*) в дубраве на южном макросклоне хребта Навагир.

Галоян Эдуард Арташегович
студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: Edsmail@yandex.ru

Исследования популяционной парцеллы скальной ящерицы (*Lacerta saxicola*) проводили летом 2005 года в Краснодарском крае на южном макросклоне хребта Навагир на высоте 300 м над уровнем моря. Целью исследований было изучение использования индивидуального пространства самцами и поиск факторов, влияющих на их распределение. На участке в 5402 м² было отловлено и помечено 25 самцов и 21 самка.

Были выделены самцы с несколькими типами использования пространства.

1. Территориальные резиденты, которые охраняют часть индивидуального участка, проявляя территориальную агрессию.
2. Нетерриториальные резиденты, имеющие индивидуальный участок без охраняемой территории.
3. Бродяги – особи, без участка или с очень большим участком.

Размер индивидуального участка самца составляет в среднем 317 м² (n=7) для территориальных резидентов и 219,25 м² (n = 4) – для нетерриториальных резидентов. Средний размер района активности территориальных резидентов составил 100,75 м² (n=7), а для нетерриториальных - 25,3 м² (n=4). Площадь зоны интенсивного использования в среднем у территориальных самцов составляла 17 м² (n=7) и 5 м² у не территориальных резидентов (n=4). Центров активности может быть от одного до девяти. В среднем суммарная

площадь центра активности составляла 5,3 м² у территориальных резидентов (n=7), и 1,94 м² у нетерриториальных (n=4). Территориальные резиденты в среднем около 84% времени проводят в зоне интенсивного использования и 72,5 % в центре активности, который занимает лишь 2-3% индивидуального участка. Центры активности высокоранговых резидентов не пересекаются. Индивидуальные участки нетерриториальных самцов очень сильно перекрываются.

Территориальные резиденты стремятся монополизировать оптимальные микробиотопы, остальные вынуждены пользоваться ими лишь изредка. Самцы курсируют между оптимальными микроместообитаниями. У самок участки почти в два раза меньше, чем у территориальных самцов. На участке одного самца может обитать несколько самок.

Исследование показало, что в пределах изучаемого биотопа пространственное распределение самцов скальной ящерицы определяется территориальным механизмом, который позволяет частично монополизировать пятнисто распределенные на территории резидента ресурсы. Наиболее значимыми факторами для самцов являются места терморегуляции и добычи корма, однако немаловажным фактором, определяющим стремление самцов завладеть гетерогенными элементами рельефа с благоприятными условиями, является наличие на них самок, что особенно сильно проявляется в период размножения.

Организация сатДНК мыши на стадии зиготы и двухклеточного зародыша

*Гарилова Е.В.¹, Енукашвили Н.И.², Нониашвили Е.М.³, Дыбан А.П.³,
Подгорная О.И.², Кузнецова И.С.².*

студент; к.б.н.; к.б.н.; д.б.н.; д.б.н.; к.б.н.

¹Санкт-Петербургский государственный университет, биолого-почвенный факультет; ²Институт цитологии РАН; ³НИИ экспериментальной медицины РАМН. Санкт-Петербург
gav1982@mail.ru

В ходе выполнения проектов по секвенированию геномов мыши и человека оказалось, что основную часть генома, более 90%, составляют некодирующие последовательности, к которым относится сателлитная ДНК (сатДНК), располагающаяся в центромерном и прителомерном районах хромосом. При этом сатДНК является не только местом сборки кинетохора, но также участвует в формировании трехмерной организации ядра, определяющей транскрипционный паттерн

экспрессии клетки. Одним из приоритетных направлений является исследование структурно-функциональной и пространственной организации сатДНК на ранних стадиях эмбриогенеза млекопитающих. В состав центромерного района хромосом *Mus musculus* входят АТ-обогащенные мажорный (MaSat) и минорный сателлиты (МиSat) и GC-богатые сателлиты мыши 3 (MS3) и 4 (MS4). Методом флюоресцентной гибридизации in situ (FISH) и иммуноцитохимическим окрашиванием мы исследовали локализацию 4 последовательностей сатДНК и ряда белков (HP1 альфа, HP1 бета, РНК хеликазы р68 и компонентов когезинового комплекса) в зиготе и 2х клеточном зародыше мыши. Мы обнаружили, что на стадии пронуклеусов и 2х клеточном зародыше большая часть сатДНК находится в деконденсированном состоянии в области «ядрышкоподобных телец», или предядрышек (ПЯ). Однако суммарный сигнал исследуемых последовательностей не занимает всю DAPI-позитивную область ПЯ. Наблюдается ассиметричное метилирование ядер 2х клеточного зародыша. Гетерохроматиновые белки (HP1 альфа и HP1 бета) лишь отчасти совпадают с гибридизационными сигналами всех сатДНК. Показано, что обязательным компонентом ПЯ являются 4 субъединицы когезинового комплекса и РНК хеликазы р68, распределение которых совпадает с гибридизационным сигналом MaSat.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 04-04-48734, 04-04-48993) и гранта Совета президента РФ для поддержки молодых кандидатов наук и их руководителей (МК – 2497.2005.4).

**Диагностика пикорнавирусной инфекции ДНК-зондом, меченным
диенплатиной**

Гаврюшина Елена Сергеевна

аспирант

Дрыгин Юрий Федорович

ведущий научный сотрудник, доктор химических наук
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: esgavriushina@mail.ru, drygin@belozersky.msu.ru

Проект посвящен разработке метода ранней диагностики вирусной инфекции в животных клетках. Актуальность работы определяется необходимостью поиска чувствительных и безопасных методов массовой молекулярной диагностики вирусных инфекций человека и животных. Наиболее распространенным является иммуноферментный

анализ, мишенью которого являются вирусные белки-антигены. Этот метод дорог и недостаточно чувствителен для ранней диагностики инфекции. На ранних стадиях инфекции вирусные РНК определяют несколькими методами (с помощью ДНК-зондов, олигонуклеотидных чипов, ОТ-ПЦР и др.). Наиболее чувствительным является метод ОТ-ПЦР, но он дорог и малопроизводителен.

Метод, разрабатываемый в данном проекте, по своей чувствительности мало уступает ПЦР-анализу, но в тоже время он более доступен, высокопроизводителен, экологически безопасен и представляет собой сочетание молекулярной гибридизации суммарной РНК клеток с ДНК-зондом и иммуноферментного анализа. Для получения препаратов суммарной РНК разработан метод, в котором используется новый экологически безопасный хаотропный агент. Для получения зонда рекомбинантную ДНК, содержащую вставку кДНК вируса Менго, метили диенплатиной. В работе использовали первичные антитела к комплексу денатурированной ДНК и диенплатины. Суммарную РНК из инфицированных клеток фиксировали на нитратцеллюлозной мембране и гибридизовали с ДНК-зондом. Далее проводили иммуноферментный анализ с помощью антител к диенплатине, коммерческих вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой, и хемилюминесцентного субстрата. Метод позволяет определять субпикограммовые количества РНК вируса Менго и, следовательно, диагностировать вирусную инфекцию на ранних стадиях ее развития.

Биологически активные вещества у микромицетов из содовых солончаков

Георгиева Марина Леонидовна

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, кафедра альгологии и микологии, Москва, Россия

E-mail: i-marina@yandex.ru

Исследования труднодоступных экстремальных природных местообитаний, таких как содовые солончаки со стабильно высокими значениями рН и разработка специальных методических приемов выделения и хранения позволили изолировать галоалкалотолерантное сообщество грибов. Созданная коллекция включает более 250 изолятов (43 вида) из различных солончаков Центральной Азии: р-н оз. Арал, Кулундинская степь, р-н оз. Байкал и пустыня Гоби (Монголия). Большинство видов отнесены к родам *Acremonium*, *Verticillium*, *Tilachlidium*, *Heleococcum*, *Scopulariopsis* и *Lecanicillium*.

Микромицеты выращивали на жидких средах (сусло (С) (рН 6,5) и среда со щелочным буфером (А), позволяющим поддерживать рН 10-10,5). Антимикробную активность определяли методом диффузии в агар (метод дисков). Изучали концентраты веществ из культуральной жидкости и из мицелия. Результаты оценивали по зонам задержки роста 14 тест-организмов (грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибы).

Проведена оценка антимикробной активности у 22 изолятов грибов (15 видов). У 8 изолятов оказалась высокая (для диких штаммов) активность по отношению к грибным и бактериальным тест-культурам. Наибольшая активность отмечена для экстрактов из мицелия *Acremonium salmoneum* на среде А, зоны подавления составляли от 10 до 21 мм (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*). Высокие значения отмечены на среде А для *A. rutilum* 7-12мм (*Leuconostoc mesenteroides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*), *Heleococcum alkalinum* 8-12 мм (*Bacillus mycooides*, *B. pumilis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*), *Verticillium dahliae* 7-17 мм (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*), *Lecanicillium longisporum* 7-18мм (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*). У *Scopulariopsis* sp. на среде А для культуральной жидкости отмечены высокие зоны подавления: 7-10 мм (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*).

У всех изолятов, протестированных на среде С активность экстрактов из мицелия и из культуральной жидкости либо отсутствовала, либо составляла 7-8 мм. Исследование антибиотической активности микромицетов из содовых солончаков показало, что они могут представлять интерес как продуценты биологически активных веществ.

**Изучение протеома митохондрий сердца крупного рогатого скота
(*Bos taurus*)**

*Гилязов Тимур Филаритович*¹,
*Барылюк Константин Владимирович*²,
*Гринкевич Владимир Антонович*³

^{1,2}студенты, ³доцент кафедры биоорганической химии, к.х.н.
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия
E-mail: grin@soil.msu.ru

Митохондрии играют значительную роль в жизнедеятельности клетки и целого организма. Помимо биоэнергетических функций, митохондрии участвуют в регуляции апоптоза и ионного гомеостаза клетки, а также в значительном числе катаболических и анаболических процессов. Митохондриальные дисфункции имеют далеко идущие последствия, приводящие к различным нарушениям в целом организме, начиная от появления дефектов в энергетическом метаболизме и заканчивая такими этиологически сложными болезнями, как болезни Альцгеймера и Паркинсона, рак, диабеты типа 2, сердечно-сосудистая болезнь, остеоартриты. Всё вышесказанное подчеркивает важность изучения протеома митохондрий, так как успехи в такого рода исследованиях могут определить новые молекулярные мишени для терапевтического вмешательства при лечении этих болезней, помогут создать новые более эффективные лекарства.

Данная работа является частью широкомасштабных исследований протеома митохондрий, активно ведущихся в лаборатории структурной биологии ИБХ РАН. Целью работы являлось получение стабильных фракций митохондрий и идентификация присутствующих в них белков методами масс-спектрометрии.

В результате проведенной работы, митохондрии, выделенные из сердца быка, были разделены на следующие фракции: 1) внешние мембраны; 2) внутренние мембраны; 3) белки матрикса. При этом внутренние мембраны выделяли в виде смеси субмитохондриальных частиц “rightside-out” и “inside-out” ориентации.

Методом одномерного SDS электрофореза в 15% ПААГ из фракции внешних мембран митохондрий было получено около 100 дискретных полос, содержащих от 2 до 5 индивидуальных белков. Полосы были вырезаны из геля, белки, составляющие их, гидролизваны трипсином, и образовавшиеся пептиды экстрагированы и обессолены на микроколонках с обращенной фазой. Анализ пептидных гидролизатов

проводили методами MALDI MS и tandemной масс-спектрометрии в варианте LC-ESI-MS/MS (ионная ловушка). Белки идентифицировали по масс-спектрам с помощью программы Mascot, используя базы данных SwissProt, Tremble, MitoProt, MSDB. Результаты дополнительно верифицировали программами X!Tandem и Scaffold.

Кроме того, часть белков была идентифицирована при анализе общего триптического гидролизата суспензии митохондрий и митопластов. Предварительно триптические пептиды разделяли последовательно высокоэффективной ионообменной и обращеннофазовой жидкостной хроматографиями («offline»). Далее фракции подвергали tandemному масс-спектральному анализу (LC-ESI-MS/MS). В конечном результате было идентифицировано около 100 индивидуальных митохондриальных белков.

Принципы построения программного обеспечения моделирования молекулярной динамики биоструктур

Голик Дмитрий Никитич

Аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: enzyme@nm.ru

В настоящее время быстро развиваются методы численного моделирования свойств биологических молекулярных систем методом молекулярной динамики. Ни одна из существующих программ не может включить всё необходимое при постановке численного эксперимента. В случае необходимости применить новые приемы моделирования надо или дополнять старую программу, или создавать новую. Изменение существующих программ затруднено в силу недокументированности и запутанности исходного кода.

В связи с этим разрабатывается идея дополняемого программного обеспечения для расчёта и анализа результатов молекулярной динамики. Такое программное обеспечение должно удовлетворять следующим критериям:

1. Максимальное функциональное разбиение программы. Программа должна состоять из минимального ядра, которое может быть запущено отдельно, и набора дополнительных функций, подключаемых к программе по мере надобности.

2. Если пользователь дополняет исходный текст такой программы, это дополнение также необходимо представлять в виде отдельного модуля, чтобы не усложнять программу для понимания. Программу можно будет дополнять в течение неограниченного времени в отличие от существующих программ.
3. Простота понимания алгоритма работы программы, достигаемая соблюдением пунктов 1 и 2 и детальной документацией исходного кода.
4. Возможность изменения исходного кода программы без перекомпиляции, а также введения команд на языке программирования непосредственно из командной строки.

Вышеописанная идея реализуется на языке программирования Форт (Forth). Этот язык позволяет исполнять программу непосредственно из исходного текста или командной строки без потерь в быстродействии. Программы на Форте всегда состоят из большого числа маленьких функций, что облегчает понимание и доработку исходного текста.

Разработанная программа позволяет оперировать молекулами в различных форматах файлов, производить расчёт методом молекулярной динамики с применением силового поля AMBER и реализует концепцию управляемой молекулярной динамики. Имеется возможность вычисления любых статистических функций во время расчёта. Возможна остановка расчёта по истечении времени или при достижении системой заданного состояния. Программа может быть дополнена методом Монте-Карло или расчётом межатомных сил по другому алгоритму. Планируется создание многопроцессорного варианта программы и молекулярного редактора на её основе.

Работа выполнена на кафедре биоинженерии (научный руководитель профессор К.В.Шайтан) при финансовой поддержке РФФИ (04-04-49645) и Роснауки.

Механизм тепловой агрегации аспартаминотрансферазы

Голуб Николай Викторович

аспирант

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

E-mail: n-golub@nm.ru

Аспартаминотрансфераза (ААТ) у эукариот находится в виде двух изоформ: митохондриальной и цитозольной. В работе использовали препарат ААТ, выделенный из митохондрий сердца свиньи. Фермент растворяли в 10 мМ Na-фосфатном буфере, рН 7,5. Тепловую денатурацию ААТ изучали методом дифференциальной сканирующей калориметрии при скорости нагрева 1 К/мин. Тепловая денатурация ААТ имеет необратимый характер. Зависимость избыточной теплоемкости (C_p^{ex}) от температуры проходит через максимум при 72,4 °С и описывается одностадийной моделью денатурации. Форма кривых зависимости C_p^{ex} от температуры постоянна при варьировании концентрации фермента. Рассчитанные значения параметров модели составляют: калориметрическая энтальпия денатурации $Q_{total} = 3026$ кДж/моль, энергия активации $E_a = 516,7$ кДж/моль и температура, при которой константа скорости денатурации равна 1 мин^{-1} , $T_1 = 346.88$ К.

Для изучения механизма тепловой агрегации ААТ использован метод динамического лазерного светорассеяния (ДЛС), позволяющий детектировать агрегаты ААТ и определять размеры частиц. Регистрацию ДЛС проводили на приборе фирмы PhotoCor Instruments (США) с He-Ne лазером в качестве источника света (λ 632,8 нм). Кинетику агрегации изучали в интервале концентраций белка от 0,05 до 0,4 мг/мл при температурах 57,5, 61,4, 65,0 и 72,0 °С. На основании анализа полученных данных предложен механизм тепловой агрегации ААТ. Ключевой стадией процесса агрегации является стадия образования стартовых агрегатов. Размер стартовых агрегатов ($R_{h,0}$) определяется из зависимости интенсивности светорассеяния I от гидродинамического радиуса R_h . Величина $R_{h,0}$ рассчитывается как отрезок, отсекаемый на оси абсцисс линейной зависимостью I от R_h . Размер стартовых агрегатов не зависит от концентрации фермента и остается практически постоянным при повышении температуры от 57,5 до 72,0 °С ($R_{h,0} = 120 \pm 8$ нм). Стартовый агрегат включает 5400 ± 800 мономеров денатурированного белка. Образовавшиеся стартовые агрегаты взаимодействуют между собой, что приводит к образованию крупных агрегатов с величиной R_h около 2000 нм, склонных к преципитации. Зависимость R_h от времени (t) описывается степенной

функций вида $R_n = R_{n,0}[1 + K(t - t_0)]^{1/d_f}$ (K - константа, t_0 – длительность стадии, приводящей к образованию стартовых агрегатов, d_f – фрактальная размерность агрегатов). Величина d_f близка к 1,8, что указывает на кинетический режим протекания агрегации; скорость агрегации лимитируется диффузией (вероятность слипания взаимодействующих частиц равна 1).

**Распределение ногохвосток (*Collembola*, *Entognatha*) на литорали
Белого моря и их выживаемость в морской воде.**

Гончар А. Л.

студент

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

gal100@yandex.ru

Ногохвостки занимают значительное место в почвенных сообществах. На морской литорали они также играют важную роль, заселяя штормовые выбросы водорослей – фукоидов и перерабатывая их. Обитание ногохвосток на таком подвижном субстрате ставит вопрос о возможности их перемещения вместе со средой обитания, а затем и дальнейшего расселения. Экспериментально была подтверждена возможность трансокеанического переноса ногохвосток на расстояние более 700 км (Coulson et al., 2002). Устойчивость ногохвосток к пребыванию в морской воде может быть обеспечена как физиологическими, так и морфологическими адаптациями организма. Выживаемость ногохвосток в морской воде обуславливается в первую очередь способностью организма к перенесению этих специфических условий. Чтобы развить такую способность, организму необходимо приобрести определённые адаптации. В ходе данной работы на Белом море была проведена попытка экспериментально выяснить максимальный предел по времени пребывания ногохвосток в морской воде, а также связать полученные данные с данными по распределению различных видов ногохвосток по литорали и с внешней морфологией этих видов. Также была произведена попытка выделения специфичной литоральной фауны ногохвосток, отличной от континентальной и представленной различными жизненными формами, характеризующими особенности распределения видов по горизонтам. В связи с этим дальнейшие исследования в этих направлениях смогут дать ответы на многие вопросы, связанные как с экологией, так и с морфологией и физиологией ногохвосток.

**Спорообразующие аэробные микроорганизмы консервного
производства Республики Беларусь**
Гончарова Наталья Владимировна
младший научный сотрудник
Белорусский государственный технологический университет,
г. Минск, Республика Беларусь
E-mail: n.goncharova@tut.by

Одними из широко распространенных в природе микроорганизмов являются споровые аэробы рода *Bacillus*. Постоянные обитатели почвы, они практически всегда присутствуют в растительном сырье для производства пищи. Благодаря способности образовывать споры, эти микробы могут выживать в продуктах, подвергнутых стерилизации. Сказанное, а также отсутствие современной характеристики бациллярной микробиоты растительного сырья и консервированной продукции из него в условиях интенсивного расширения ассортимента консервов обусловили интерес к проведению наших исследований. Результаты микробиологических исследований широкого ассортимента новых видов растительных консервов для детского питания и сырья, используемого для их производства, показали, что микробиота сырья и полуфабрикатов, а также остаточная микробиота консервов представлена в основном мезофильными, грам-положительными, спорообразующими, вырабатывающими каталазу палочками, отнесенными нами к роду *Bacillus*. Многие из выделенных нами микроорганизмов разжижали желатин, гидролизovali крахмал, большинство восстанавливали нитраты, некоторые проявляли способность к росту при низких (6°C) или высоких (55°C) температурах. Исследования факторов патогенности выделенных микроорганизмов показали, что большинство штаммов обладали гемолитической активностью, некоторые были лецитиназоположительны, отдельные штаммы проявляли каталазную активность, однако не было выявлено микроорганизмов, проявивших токсигенные свойства в отношении тест-организмов *Euglena gracilis* и *Chlorella kessleri*. Следует отметить, что сырье, поступающее в производство консервов для детского питания, удовлетворяло установленным микробиологическим нормативам, однако обсемененность продукции перед стерилизацией зачастую превышала допустимые уровни, что говорит о недостаточной санитарно-гигиенической культуре на пищевых предприятиях. В то же время вся стерилизованная продукция отвечала требованиям промышленной стерильности, более того, рост

микроорганизмов редко наблюдался даже при анализе консервов на стерильность. Это обусловлено использованием жестких режимов стерилизации, значительно превышающих микробиологические нормативы и приводящих к излишней деструкции продукта. Важнейшей стадией любого пищевого производства является дезинфекция, проводимая с целью профилактики инфицирования и обеспечения выпуска качественных продуктов питания, безопасных для населения в эпидемическом отношении. Поэтому интерес представляло исследование устойчивости микроорганизмов-представителей консервного производства к новым недорогим дезинфектантам белорусского и российского производства. В результате исследований было выявлено, что наибольшей спороцидной активностью обладали традиционно применяющийся раствор хлорной извести и средство на основе надуксусной кислоты, более слабым было действие дезинфектанта на основе перекиси водорода. Явно выраженный спороцидный эффект дезсредства, активным веществом которого является полигексаметиленгуанидина гидрохлорид, в условиях нашего эксперимента не наблюдался.

Экспрессия и очистка рекомбинантного белка Apo2L/TRAIL в *E.coli* и исследование его биологической активности на культуре клеток HeLa.

Горожанина Анна Валерьевна
студентка

*Московский Государственный Университет им. Ломоносова, Москва,
Россия*

E-mail: anne-gor2002@yandex.ru

Наиболее известными белками-индукторами апоптоза являются цитокины из семейства фактора некроза опухолей (TNF, Tumor Necrosis Factor). TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand, или Apo2L) является относительно недавно идентифицированным цитокином из семейства TNF и способен селективно вызывать апоптоз в опухолевых клетках, не затрагивая при этом нормальные клетки. Его рецепторы экспрессируются в различных типах тканей, что говорит о широком спектре действия TRAIL и возможном использовании в терапии опухолей. В нашей лаборатории была разработана методика получения рекомбинантного белка TRAIL, содержащего лишь внеклеточный домен (аминокислотные остатки 114-281). Внеклеточный домен TRAIL

(аминокислотные остатки 114-281) хорошо растворим и обладает высокой цитотоксической активностью.

Ген, кодирующий белок TRAIL, был клонирован в вектор pET32a, и рекомбинантный слитный белок T_{rx}/TRAIL (114-281) (с доменом тиреодоксина T_{rx} на N-конце в качестве «несущего» белка) был экспрессирован в штамме *E.coli* BL21(DE3). Слитный белок T_{rx}/TRAIL экспрессировался в *E.coli* в нерастворимой форме, образовав тельца включения; уровень экспрессии составил 0.67 г/л. Очищенные тельца включения были растворены в 6М гуанидине и слитный белок T_{rx}/TRAIL был ренатурирован в растворе 0.7 М аргинина. После диализа ренатурированный белок был очищен методом Ni-аффинной хроматографии и расщеплен энтеропептидазой. Был получен раствор рекомбинантного белка TRAIL с нативным N-концом.

Исследована биологическая активность рекомбинантного белка TRAIL на культуре опухолевых клеток HeLa. Признаки апоптоза наблюдались при концентрации TRAIL 500 нг/мл. Было показано повышение эффективности действия TRAIL при совместном действии с ингибиторами цитоскелета и биосинтеза белка. Даже при высоких концентрациях TRAIL и ингибиторов отсутствовали признаки некроза.

К биологии плотвы сибирской озера Копа

Горюнов Алексей Вячеславович

Магистрант 2-го года обучения

Университет им. Ш.Уалиханова, фак-т химии и биологии, Казахстан,
г.Кокшетау

В Кокшетауском регионе не проводилась паспортизация промысловых водоемов. Слабо изучен видовой состав ихтиофауны, неизвестно состояние кормовой базы рыб, удельный вес отдельных видов. Все эти показатели необходимы для рационального ведения рыбного хозяйства и природопользования.

Изучен качественный состав ихтиофауны озера Копа. Озеро находится в черте города Кокшетау. Источником водоснабжения являются реки Чаглинка и Кылшакты. Объектами наших исследований стали массовые виды рыб водоема: лещ, плотва, карась, окунь, щука, судак.

Ниже приводятся некоторые полученные нами данные по биологии плотвы сибирской.

Описание. В озере Копа Акмолинской области длина тела плотвы сибирской без хвостового плавника не превышает 30см, масса 400г. Обычные ее размеры здесь 11-20см и 20–150г. В водоеме вылавливают

особей однотонного ярко-серебристого цвета. Рот конечный, скошен вниз. Боковая линия выражена четко.

Размножение и плодовитость. Сибирская плотва – рыба с ранневесенним икрометанием. У большинства самцов в нерестовый период появляется на голове и спине “брачный наряд” в виде эпителиальных бугорков. Нерестится в мае после прогрева воды до 6-7 °С. Плотва – фитофильная рыба; обычно выметывает икру на прошлогодние растения, часто нерестовым субстратом служат сплетения отмытых корневищ тростника, рогоза, камыша. Абсолютная плодовитость плотвы в озере Копа равна 21-43 тыс., в среднем 32 тыс. икринок.

Рост и возраст. В первые 3-4 года жизни у плотвы наиболее интенсивен линейный рост, а затем возрастает прирост массы тела. С первых лет жизни самки опережают самцов по темпу роста. По возрастным группам пределы колебаний длины и массы плотвы значительны, как правило, максимальные линейные размеры вдвое превышают минимальные, а по массе тела – обычно в 5-6 раз. В разных экологических условиях темп роста плотвы существенно изменяется. Обычно возраст плотвы в водоеме не превышает 7 лет, преобладают 3-6 годовалые рыбы.

Питание. По типу питания сибирская плотва считается бентоядной рыбой. Она может питаться фитопланктоном и зоопланктоном, обрастаниями, растительным детритом, в период нереста поедает икру и личинок рыб. Основу пищи сеголеток (длиной 2,2 – 3,6см.) составляют низшие ракообразные, ветвистоусые, в небольшом количестве в рационе обнаружены личинки хирономид, водные клещи. Молодь плотвы длиной 4-10 см. предпочитает животный корм. Взрослые рыбы питаются и моллюсками. Пищевой комок рыб длиной тела 15-20см. и массой 75-420г. состоит из личинок хирономид (35,9%), гаммарусов (27,3%), икры рыб (5,4%), пиявок (4,6%), прочих организмов (26,8%). К осени в питании преобладают моллюски, в отдельных случаях достигая 100%.

**Изучение рибосомального белка L7/L12 с помощью
моноклональных антител**

Гребенюк Екатерина Сергеевна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: greka-25@yandex.ru

Певзнер Ирина Борисовна

научный сотрудник, к.б.н.

НИИ трансплантологии и искусственных органов при ФА по

здравоохранению и социальному развитию, Москва, Россия

Малюченко Наталья Валерьевна

старший преподаватель, к.б.н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Биологический факультет, Москва, Россия

Агапов Игорь Иванович

доцент, д.б.н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Биологический факультет, Москва, Россия

Рибосома представляет собой сложную асимметричную рибонуклеопротеидную частицу, состоящую из рибосомальных РНК и белков, которая обеспечивает синтез белка в клетке. Рибосомальные белки играют важную роль в поддержании структуры и функции рибосом. Таким образом, представленная тема является актуальной, так как изучение взаимодействия моноклональных антител с рибосомальным белком L7/L12 позволит более подробно изучить роль и механизмы взаимодействия рибосомальных белков и компонентов трансляционной машины в процессе биосинтеза белка. С помощью полученных антител, которые взаимодействуют с рибосомальным белком L7/L12, может быть предсказано расположение антигенных детерминант в белке L7/L12, и создана уникальная тест-система для определения числа копий белка L7/L12 в рибосомах различных бактерий.

В настоящей работе было проведено сравнение последовательностей рибосомальных белков L7/L12 из разных микроорганизмов и проверено взаимодействие этих белков с моноклональными антителами. Для изучения были выбраны микроорганизмы, ответственные за возникновение латентных заболеваний у человека. В дальнейшем изучение белка L7/L12 поможет глубже понять регуляцию процесса

трансляции у бактерий и изучить функциональную активность прокариотических рибосом, а также создать новые способы лечения заболеваний, вызываемых патогенными микроорганизмами.

Молекулярно-генетический анализ тапеторетинальной абииотрофии сетчатки

Гринберг Эльвира Римовна

Аспирант

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

E-mail: grinberg_ela@mail.ru

Тапеторетинальная абииотрофия сетчатки (ТАС) – наследственное заболевание, при котором происходит нарушение работы фоторецепторов и пигментного эпителия сетчатки, что ведет к прогрессирующей потере зрения. Около 15-25% всех случаев ТАС приходится на аутосомно-доминантные формы, 5-20% - на аутосомно-рецессивные, на сцепленную с X-хромосомой форму – 5-15%. Велико число спорадических случаев – от 40 до 50%. Многие мутации генов каскада фототрансдукции определяют ряд фенотипических проявлений ТАС и механизмы дегенеративных процессов в фоторецепторах. Ген RPE65 наиболее интересен для клиницистов и генетиков в связи с достаточно высокой частотой (до 6-12%) повреждения этого гена у больных с ранними формами ТАС. Мутации гена RHO ответственны за возникновение 25-30% всех случаев аутосомно-рецессивных и аутосомно-доминантных форм ТАС.

Целью исследования является изучение спектра мутаций в генах RPE65 и RHO у больных с различными формами ТАС из Башкортостана.

ДНК выделена из крови пациентов с диагнозом ТАС и членов их семей, проживающих в РБ (выборка 181 человек, 119 семей), также использована ДНК здоровых доноров, коренных жителей Волго-Уральского региона (79 человек). Больные состоят на учете в УфНИИ глазных болезней. Обнаружен полиморфизм GAG/GAA (Glu325Glu) в 10-м экзоне гена RPE65 в 7 образцах ДНК пациентов, среди которых 1 являлся гомозиготой, а 6 – гетерозиготными носителями полиморфизма. В группе контроля обнаружено 8 образцов ДНК, содержащих данный полиморфизм в гетерозиготном состоянии. Частота полиморфизма GAG/GAA (Glu325Glu) гена RPE65 на хромосомах больных ТАС составляет $0,033 \pm 0,012$, а на хромосомах здоровых доноров он встречается с частотой $0,051 \pm 0,017$. При SSCP- анализе генов RHO (1 и 5 экзоны) и RPE65 (4 экзон) обнаружены конформационные

полиморфизмы в образцах ДНК больных ТАС. Планируется секвенирование этих образцов. При исследовании гена RHO выявлено изменение нуклеотидной последовательности (замена с/т) в III интроне IVS3+4с→t, которое достоверно чаще встречается у больных ТАС, чем у здоровых. Возможно, изменение IVS3+4с→t гена RHO имеет непосредственное отношение к патогенезу ТАС и является мутацией сайта сплайсинга. При анализе полиморфного ДНК-локуса Mfd2CA в I интроне гена RHO обнаружено 14 аллельных вариантов. Аллели 116 и 132 достоверно чаще встречаются на хромосомах больных, чем на хромосомах здоровых доноров.

Действие ловастати́на, ингибитора биосинтеза холестерина, на продуцент *Aspergillus terreus* шт. 35

Гудова Наталья Владимировна

студентка

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: nat-gudova@yandex.ru

Мицелиальные грибы, представители различных родов и видов, являются продуцентами ингибиторов ферментов биосинтеза холестерина. *Aspergillus terreus* и *Monascus ruber* образуют ловастатин – ингибитор ключевого фермента на пути биосинтеза холестерина – гидроксигидрокси-метилглутарил-КоА-редуктазы (КФ 1.1.1.34). Микромицеты синтезируют статины из ацетатных единиц на пути биосинтеза изопреноидов

Статины представляют большой интерес в связи с использованием их в медицине в качестве препаратов, снижающих общий холестерин сыворотки крови, что приводит к увеличению числа рецепторов липопротеинов низкой плотности (ЛНП) и к возрастанию выведения ЛНП из кровотока. Кроме того, статины обладают антитромботическими и протромболитическими свойствами, ингибируют рост злокачественных опухолей, дают положительный эффект при болезни Альцгеймера. Предполагают, что это связано с влиянием статинов на биосинтез сигнальных белков через ингибирование фарнезил- и геранилгеранил-остатков

Изучено влияние ловастати́на на клетки эукариот – на чувствительные к ловастатину штаммы дрожжей и на клетки животного организма и человека. Работ по влиянию ловастати́на на сам продуцент нет.

Мы исследовали действие ловастатина в форме Na-соли мевинолиновой гидроксикислоты на накопление биомассы, биосинтез эргостерина и биосинтез вторичных метаболитов продуцентом ингибитора *Aspergillus terreus* шт. 35.

Было изучено действие ловастатина на эти процессы в концентрациях от 0,2 до 2,0 мкг/мл. Показано, что ловастатин в исследуемых концентрациях не ингибирует рост гриба, но при этом существенно снижает биосинтез эргостерина в мицелии - от 25 до 30%.

Действие ловастатина на биосинтетическую активность продуцента было изучено на примере образования им вторичных метаболитов. Показано, что в присутствии ловастатина качественный состав вторичных метаболитов меняется, по сравнению с контролем (рост без ловастатина). Отдельные фракции изучали на наличие антигрибной активности с тест-организмом *Rhodotorula rubra* ВКПМ Y1337. Ингибиторную активность метаболитов микромицета оценивали по степени ингибирования биосинтеза эргостерина у дрожжей *Rhodotorula rubra*. Показано, что в среде с ловастатином увеличивается количество фракций, обладающих антигрибной активностью, однако степень ингибирования ими биосинтеза эргостерина заметно снижается.

В дальнейшем предполагается продолжить изучение роли ловастатина в регуляции биосинтеза ряда вторичных метаболитов у его продуцента – микромицета *Aspergillus terreus*.

Интродукция редких видов декоративных луковичных растений (рр. *Allium*, *Narcissus*) в г. Сургуте

Гулакова Наталья Михайловна

Аспирант

Сургутский государственный университет-ХМАО, биологический
факультет, Сургут, Россия

E-mail: gulakova_natalia@mail.ru

Проведено изучение интродукции некоторых редких растений из сем. Liliaceae (лук-шнитт (*Allium schoenoprasum*), лук-слизун (*A. nutans*), лук Моля (*A. Moly*), лук неаполитанский (*A. neapolitanum*)) и сем. Amaryllidaceae (нарциссы (*Narcissus hybridus*) сортов Flower drift, St. Patrick's Day) для расширения ассортимента культур, используемых в озеленении. Отсутствуют данные по интродукции этих видов на севере Западной Сибири.

Исследования проводили на базе теплицы и опытного участка СурГУ в 2003-2005 гг. на основе коллекции Сибирского ботсада Томского

государственного университета. Изучалось влияние сроков высадки на фенологические и биометрические показатели исследуемых растений, определена всхожесть семян. Наблюдения проводились с периодичностью 10 дней.

По большинству биометрических и фенологических показателей лучшие результаты были продемонстрированы луком-слизуном, луком Моля и сортом нарциссов St. Patrick's Day. Лучшие результаты достигнуты при ранней посадке растений по сравнению с растениями, высаженными на месяц позже. Поздняя высадка сокращает период вегетации и сдвигает наступление фенологических фаз. Шнитт-лук и лук-слизун в связи с семенным способом размножения зацвели в 2005 г. Наблюдалось вегетативное размножение детками и возрастание кустистости у шнитт-лука, лука-слизуна и обоих сортов нарциссов. Семенная репродукция в Сургуте и вегетативное размножение луковичных позволяют снизить затраты на приобретение посевного материала и получить наиболее приспособленные к северному климату экземпляры растений.

У многолетников перезимовавшие растения II года жизни превосходили свои биометрические показатели I года. Продолжительность цветения и все биометрические показатели нарциссов возрастают с увеличением срока возделывания. Нарциссы успешно зимуют в северном климате с укрытием; без него возможно выпадение отдельных экземпляров махровых нарциссов. Высокая зимостойкость отмечена у шнитт-лука и лука-слизуна. Изученные виды хорошо показали себя в климатических условиях Севера, обладают интродукционной устойчивостью и высокой декоративностью и могут быть применены в цветочных насаждениях города. Разнообразие интродуцентов позволяет использовать различные виды в различных типах цветочных посадок при многосезонном оформлении цветников в ландшафтном дизайне.

Структурно - термодинамические исследования новых химерных белков на основе кругового пермутанта α - спектринового SH3-домена

Гуцина Любовь Владимировна

аспирантка I года

Институт белка РАН, Пушкино, Россия

E-mail: ljubin@vega.protres.ru

SH3 (Src homology region 3) домены ($M_r \sim 7000$ Да) - типичные представители β - структурных глобул с ортогональным расположением

коротких β - листов, являющиеся важными регуляторными компонентами многих белков эукариот, например, киназ. Регуляция активности последних осуществляется через взаимодействия с пролин-богатыми последовательностями белков-партнеров (Mayer et al., 1988, Musacchio et al., 1992, Musacchio et al., 1994), которые могут располагаться на узнающей поверхности домена в двух противоположных ориентациях – I и II (Feng et al., 1994, Fernandez-Ballester et al., 2004). Возможность связывания олигопептидов в двух ориентациях обеспечивается зеркальной симметрией полипролиновой спирали (Fernandez-Ballester et al., 2004). Ранее было показано, что спектринный SH3 домен предпочитительно образует комплексы с пептидными лигандами в ориентации I. С целью проверки возможности образования комплекса с ориентацией II и увеличения его прочности нами были сконструированы последовательности химерных белков по следующей схеме: мет-лиганд–линкер–КП, где лиганд - это декапептид GAPPLPPESA, линкер содержал два или три аминокислотных остатка, а КП – это круговой пермутант S19-P20s с разрывом в RT петле исходного домена.

Гены химерных белков *sh3f1* и *sh3f2*, с линкерами гли-асн-гли и гли-гли соответственно, были сконструированы, клонированы и экспрессированы в клетках *Escherichia coli*. Данные флюоресценции и сканирующей калориметрии свидетельствуют о том, что в белке SH3F2 лиганд прочно сидит на месте связывания в ориентации II, в то время как в случае SH3F1 последовательность лиганд - линкер практически не взаимодействует с телом домена. Определены термодинамические параметры образования новых кооперативных единиц и через них параметры связывания лиганда в нетипичной для этого белка ориентации. С целью интерпретации калориметрических и спектроскопических данных предпринимаются попытки получить точную информацию о структуре белков методами ЯМР и рентгеноструктурного анализа. Получены первые кристаллы, ведется поиск оптимальных условий их роста.

**Полиморфизм генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний
в популяции татар в связи с возрастной периодизацией**

Данилова Вера Викторовна

соискатель

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,

г. Уфа, Россия

E-mail: danivera@mail.ru

Поскольку в большинстве случаев патологические возрастные изменения в организме связаны с поражением сердца и сосудов, целесообразно изучение генов-кандидатов таких заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, эссенциальная гипертензия и др. К их числу относят ген ангиотензин-превращающего фермента (*ACE*), вовлеченного в регуляцию артериального давления, ген аполипопротеина Е (*APOE*) - белка, участвующего в липидном обмене, а также ген параоксоназы (*PON1*) – фермента, оказывающего защитное действие против окислительной модификации липопротеинов низкой плотности (ЛНП).

Целью работы было изучение распределения частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров трех генов: *ACE* (интрон 16 *I/D*), *APOE* (экзон 4, *Cys112* → *Arg*, *Arg158* → *Cys*), *PON1* (*Q192R*) в популяции татар в связи с возрастной периодизацией. Образцы ДНК получены из цельной венозной крови мужчин и женщин в возрасте от 1 до 108 лет, татар по этнической принадлежности. Выборка (879 человек) дифференцирована на отдельные группы согласно возрастной периодизации: младшая (1-20 лет, n = 266), зрелая (21-55 лет, n =317), старческая (75-89 лет, n =253) и группа долгожителей (90-108 лет, n=43). Генотипирование выполнялось методом ПЦР и ПЦР-ПДРФ.

В группе лиц старческого возраста по сравнению с группой лиц зрелого возраста частота генотипа *ACE*I/*D* понижена (45.6 % против 57.1 %, P=0.007), а частота генотипа *ACE*I/*I* повышена (26.6 % против 19.2 %, P=0.03). В старческой группе по сравнению с группой лиц в возрасте от 1 до 20 лет увеличена частота генотипа *PON*Q/*Q* (49.4% и 37.6% соответственно, P=0.02) и уменьшена частота генотипа *PON*R/*R* (6.3% и 12.4% соответственно, P=0.04). Частота генотипа *PON*R/*R* в группе долгожителей в 2.6 раз превышает таковую в старческой группе (16.3 % и 6.3 % соответственно, P=0.06). Частота аллеля *PON*R* в группе стариков достоверно ниже по сравнению с младшей возрастной группой (28.5% против 37.4%, P=0.009) и долгожителями (28.5% против 40.7%,

P=0.03). По аллельным вариантам гена *APOE* не обнаружено достоверных различий в распределении частот в сравниваемых группах. Генотип *PON*R*/R* и аллель *PON*R* предрасполагают к развитию сердечно-сосудистых заболеваний в зрелом возрасте. Возможно, наблюдаемое снижение частот у лиц старческого возраста является следствием отбора по сердечно-сосудистой патологии. У лиц старческого возраста направленность отбора по полиморфизму гена *PON1* иная, о чем свидетельствует повышение частоты генотипа *PON*R*/R* у долгожителей. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 05-04-48604)

ДНК никазы *N.Bsp* D6I, *N. Alw*I, *N.Bbv*C IA, *Bsm*I стимулируют синтез ДНК ab initio ДНК-полимеразой из *Bacillus stearothermophilus*

Дворецкий Евгений Владимирович¹, Зырина Надежда Витальевна²

¹студент 4 курса

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
Кафедра молекулярной биологии Пушкинского филиала
Учебный центр молекулярной биологии Института белка РАН, Пушкино,
Россия

E-mail: dvreckijj@rambler.ru

²Научный сотрудник Института теоретической и экспериментальной биофизики, Пушкино, Россия

Изотермическая амплификация ДНК в настоящее время привлекает к себе все больше внимания как возможная альтернатива PCR и как один из методов тотальной амплификации геномной ДНК. В таких реакциях предложено использовать совместно с ДНК полимеразой ДНК никазу, делающую одонитевые разрывы (ники), которые должны служить точками инициации синтеза. Мы пытались разработать методику изотермической амплификации с использованием выделенной и охарактеризованной нами ДНК никазы *N. Bsp*D6I и *Bst* ДНК полимеразы. Такое сочетание ферментов было продиктовано тем обстоятельством, что эти два фермента имеют близкие температурные оптимумы и совместимые буферы. Однако мы столкнулись с явлением сильной стимуляции синтеза ДНК при добавлении этих двух ферментов в отсутствие ДНК матрицы и праймеров. При добавлении же инактивированной прогреванием никазы синтеза не было. Следовательно, наблюдаемый синтез ДНК обусловлен наличием в реакционной смеси активной ДНК никазы.

Мы показали, что *Bst* ДНК-полимераза также может осуществлять безматричный синтез ДНК и без никазы. Никаза N. *Bsp* D6 I сильно стимулирует синтез, осуществляя одноцепочечные разрывы в молекуле ДНК (GAGTC(N)₄↓). Безматричный синтез ДНК также стимулируется никазами N. *Alw*I, N.*Bbv*C IA, *Bsm*I. Синтез проводился в соответствии с температурными оптимумами никаз при постоянной температуре. Была выявлена зависимость длины фрагментов от времени и количества никазы в реакционной смеси. По данным электронной микроскопии, основная часть молекул синтезированной ДНК *Bst* ДНК полимеразой в присутствии N. *Bsp*D6I представлена разветвленными формами. Клонирование и секвенирование этих фрагментов ДНК показало, что она состоит в основном из длинных tandemных повторов шестинуклеотидной последовательности, включающей сайт узнавания никазой N. *Bsp*D6I. Предложена модель участия ДНК-никазы в процессе безматричного синтеза.

Филогенетические отношения родов *Carum* и *Bunium* (*Umbelliferae*) по данным анализа нуклеотидных последовательностей участка ITS1,2 ярДНК.

Дегтярева Г.В.

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: degavi@genebee.msu.su

Род *Carum* L. (*Umbelliferae*) включает около 30 видов, распространенных в Евразии и Северной Африке. Ряд авторов сближают *Carum* с родом *Bunium* L., а некоторые включают виды рода *Bunium* в его состав. В отличие от *Bunium*, представители рода *Carum* характеризуются наличием стержневого корня и сидячими первичными базальными сегментами листьев. По результатам предыдущих исследований типовой вид рода *Carum*, *C. carvi* L., вместе с другими представителями трибы *Careae* входит в состав сестринской клады, объединяющей род *Bunium* и некоторые другие геофильные зонтичные Средней Азии. Чтобы уточнить взаимоотношения между родами *Carum* и *Bunium*, определяли последовательности участка ITS1-2 ядерной рибосомальной ДНК у 5 видов рода *Carum* и объединили их с последовательностями 3 видов, хранящимися в генобанке. Филогенетические деревья строили методом максимальной экономии и

методом Байеса. Топология деревьев, построенных двумя методами, в общих чертах не содержит противоречий. По результатам анализа, род *Carum* не представляет собой монофилетичный таксон. На филогенетическом дереве представители рода распадаются как минимум на пять клад. Часть видов группируется вместе с *Carum carvi*. Вид *Carum multiflorum* Boiss., выделенный в самостоятельный род *Hellenocarum* H.Wolff, на филогенетическом дереве входит в состав клады, включающей виды рода *Bunium*, произрастающие западнее Ирана. Это согласуется с морфологическими данными, поскольку этот вид обладает зародышем с одной семядолей больше характерным для рода *Bunium*. На филогенетическом дереве редкий вид *Carum komarovii* Karjag., произрастающий в Армении и Азербайджане, наиболее близок роду *Pimpinella* L. (*P. anthriscoides* Boiss.; этот вид по комплексу морфологических признаков занимает обособленное положение в роде *Pimpinella*); оба эти таксона формируют сестринскую кладу к кладе, объединяющей виды рода *Aegopodium* L. По результатам филогенетического анализа роды *Carum* и *Bunium* не представляют собой монофилетичные таксоны, однако находятся в близком родстве, подтверждая предположение о близости этих двух таксонов, основанное на морфологических данных. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 04-04-49737а.

**Идентификация и картирование участков связывания
транскрипционного фактора CTCF на хромосоме 19 человека
между маркерами *FXYD5* и *COX7A1***

Дидыч Дмитрий Александрович¹, Ветчинова Анна Сергеевна²

1-студент Московского Государственного Университета им. М.В.

Ломоносова, 2-аспирант ИБХ РАН

Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, г. Москва

E-mail: Dmitry_D@inbox.ru

Белок CTCF – высоко консервативный и полифункциональный транскрипционный фактор, способен связываться с промоторами генов, при этом, CTCF в одних случаях подавляет транскрипцию, в других – активирует ее. CTCF связывается с инсуляторами и, по-видимому, принимает участие в блокировании действия энхансера на промотор. В связи с этим, картирование, а также функциональный анализ участков связывания этого фактора представляют несомненный интерес. Для идентификации участков связывания CTCF в геномном локусе

хромосомы 19 человека длиной 1 млн.п.н. нами была получена библиотека коротких фрагментов этого локуса, из которой с помощью метода двумерного EMSA (Electrophoretic mobility shift assay) были отобраны фрагменты ДНК, способные связываться с белком CTCF. Отобранные участки ДНК были амплифицированы, клонированы в плазмидном векторе и секвенированы. Способность 10 полученных фрагментов ДНК специфически связываться с CTCF была подтверждена методом дополнительного сдвига электрофоретической подвижности в присутствии антител к этому транскрипционному фактору. Эти последовательности были картированы на 19 хромосоме человека. Показано, что участки связывания белка CTCF располагаются внутри интронов генов *GAPDS*, (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, специфичная для яичек), *MGC10433*, кодирующего белок с неустановленной функцией, *MAG* (гликопротеин, ассоциированный с миелином), *CD22*, кодирующего одну из изоформ В-клеточного рецептора, *C19orf14*, кодирующего белок с неустановленной функцией, в 3'-нетранслируемой области гена *ATF4A*, а также в межгенных областях, внутри повторяющихся последовательностей генома, таких как Alu и LINE.

Эпитопный анализ рибосомального белка L7/L12

Докрунова Айтсана Алексеевна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Биологический факультет, Москва, Россия

Розов Алексей Сергеевич

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Химический факультет, Москва, Россия

Певзнер Ирина Борисовна

научный сотрудник

НИИ трансплантологии и искусственных органов при ФА по
здравоохранению и социальному развитию, Москва, Россия

Агапов Игорь Иванович

доцент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Биологический факультет, Москва, Россия

Белок L7/L12 является уникальным рибосомальным белком. Он, единственный среди рибосомальных белков, содержится в рибосоме в

количестве нескольких копий. В отличие от большинства рибосомальных белков, L7/L12 не связан напрямую с рибосомальной РНК, а входит в комплекс с белком L10. Белок L7/L12 участвует во всех основных стадиях процесса трансляции, но полностью его функция не изучена.

Недавно было показано, что у некоторых бактерий в состав рибосом может входить не 4, как у *E.coli*, а 6 копий белка L7/L12. Такое различие, по-видимому, связано с приспособляемостью бактерий к изменяющимся условиям существования. Таким образом, структурно-функциональное исследование белка L7/L12 имеет большое значение для понимания механизма трансляции у различных бактерий. Эти данные востребованы в современной медицине, в частности, в области создания новых антибиотических препаратов.

В нашей лаборатории в настоящее время идет изучение структурных особенностей рибосом бактерий разных видов, в том числе и иммунохимическими методами, такими как Western-блоттинг и твердофазный иммуноферментный анализ. В рамках этого исследования и была проведена данная работа.

Ранее были получены моноклональные антитела против белка L7/L12 *E.coli*. Методом Western-блоттинга было показано, что одно из антител узнает только белок L7/L12 в составе рибосом *E.coli*, а второе – белки L7/L12 *E. coli*, *A. tumefaciens*, *R. meliloti* и *T. thermophilus*.

Сравнительный анализ последовательностей белков этих бактерий позволяет нам установить антигенный эпитоп для этих антител.

Типологические особенности церебральной гемодинамики студентов

Долецкий А.Н.

сотрудник университета, к.м.н.

Волгоградский государственный медицинский университет. Волгоград,
Россия
andoletsky@volgmed.ru

Целью настоящего исследования являлось выявление нарушений реактивности церебральных сосудов среди лиц молодого возраста, имеющих различные типы церебрального кровотока.

Было обследовано 293 студента обоего пола в возрасте 18-21 год, признанных здоровыми по результатам предварительного медосмотра. Обследование включало в себя определение параметров системной и мозговой гемодинамики методом тетраполярной реографии в покое и

при действии гравитационной нагрузки (антиортостаз с углом наклона 30°). Для количественной характеристики реоэнцефалограмм использовался разработанный на основе гармонического анализа интегральный показатель кровотока (ИПК), объединяющий показатели тонуса артерий крупного и мелкого диаметра региона. С использованием кластерного анализа методом К-средних было выделено три типа церебрального кровообращения в покое: гипотонический, нормотонический и гипертонический.

На первой минуте антиортостаза в результате гравитационного перераспределения крови в нижележащие отделы тела усиливался приток крови к головному мозгу. Наибольшим приростом пульсового кровенаполнения характеризовался гипертонический тип, а наименьшим – гипотонический тип мозговой гемодинамики. Гипертонический тип церебрального кровотока также характеризовался меньшим, чем в нормотонической и гипотонической группах, увеличением тонуса артерий мелкого калибра в антиортостазе по сравнению с клиностазом (для перечисленных групп оно составило 32, 78 и 127% соответственно).

По результатам анализа межсистемного взаимодействия, гипотонический тип церебрального кровообращения обладал наименьшим, а гипертонический тип – наибольшим числом связей между параметрами системного и церебрального кровообращения, что, по-видимому, отражает истощаемость системы ауторегуляции мозговой гемодинамики.

Таким образом, исследование подтверждает, что высокий тонус церебральных сосудов в покое является “группой риска”, в которой наиболее возможен “срыв” ауторегуляции церебральной гемодинамики. В основе предрасположенности к этому лежит быстрое истощение местных механизмов регуляции мозгового кровотока и последующая реализация постоянства мозгового кровенаполнения наименее эффективным способом.

Вклад Ia афферентов в формирование локомоторного паттерна при эпидуральной стимуляции спинного мозга децеребрированной

кошки

Дорофеев Игорь Юрьевич

аспирант

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: igdor@yandex.ru

Известно, что кратковременная ишемия конечности приводит к подавлению проводимости по Ia афферентам, но не препятствует проведению эфферентных сигналов к мышцам.

В данной работе исследовались обратимые эффекты выключения Ia афферентов на электромиографическую (ЭМГ) активность мышц при эпидуральной стимуляции спинного мозга (ЭССМ).

Острые опыты проведены на децеребрированных кошках весом 3,0-4,0 кг. Децеребрация проводилась под эфирным наркозом. ЭССМ осуществлялась в локомоторной зоне на уровне L4-L5 сегментов спинного мозга. Для стимуляции использовались прямоугольные импульсы тока, длительностью 0,5 мс от 20 до 250 мкА, с частотами 0,5 и 5,0 Гц. Регистрировали электромиограммы (ЭМГ) от мышц m. Quadriceps (m.Q); m. Semitendinosus (m.St); m. Tibialis anterior (m.Ta); m. Gastrocnemius (m.Gm). Выключение Ia афферентов вызывалось путем жгутирования на уровне верхней трети бедра в течение 25 минут.

При частоте 0,5 Гц, равносильной одиночному раздражению, в большей степени влияние ишемии сказывалось на проксимальном разгибателе (m. Quadriceps) - наблюдалось снижение амплитуды ранних ответов, что можно объяснить снятием возбуждающих влияний Ia афферентов. Влияние ишемии на дистальные разгибатели проявлялось в меньшей степени. ЭМГ ответы сгибательных мышц оказались менее чувствительны к воздействию ишемии конечности, и флуктуировали в зависимости от функционального состояния спинного мозга кошки. Ритмическая стимуляция с частотой 5 Гц вызывала локомоцию задних конечностей по движущейся ленте тредбана как при интактных афферентах, так и в условиях ишемии. При ишемии по сравнению с интактными афферентами на ЭМГ наблюдалось увеличение длительности пачек в разгибательных мышцах и облегчение ранних рефлекторных ответов. Эти эффекты можно объяснить растормаживанием тормозных нейронов группы Ia, на которые в норме Ia афференты конвергируют и возбуждают их, что обеспечивает перекрестное торможение при переходе возбуждения от флексоров к

экстензорам. Изменение амплитуды ранних рефлекторных ответов в разгибателях отмечалось лишь при совпадении стимула ЭССМ с пачечной активностью в данной мышце. В межпачечном промежутке рефлекторные ответы оставались практически неизменными независимо от ишемии конечности. ЭМГ активность мышц сгибателей при локомоции оказалась более устойчивой к воздействию ишемии и не отличалась от таковой при инактных афферентах. Кинематически влияние ишемии выражалось в более высоком тонусе разгибателей и скованности движения конечности.

Таким образом, на основании проведенных экспериментов по выключению Ia афферентов с помощью ишемии конечности можно сделать следующие заключения: 1. Облегчение раннего ответа во время локомоции при выключении Ia афферентов, свидетельствует о пресинаптическом механизме торможения со стороны афферентного входа в норме. 2. Подавление рефлекторных ответов на ЭССМ в межпачечном интервале не зависит от выключения Ia афферентов, что позволяет предполагать наличие активного тормозного процесса в нейрональных сетях спинного мозга.

**Парасимпатическая иннервация области илеоцекального
сфинктера и восходящей части ободочной кишки**

Дорофеева Анна Александровна

аспирант

Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: ann-dorofeeva@yandex.ru

Нами изучалось участие нейронов сакрального парасимпатического интермедиолатерального ядра в иннервации различных участков толстой кишки. Работа выполнена на 8 кошках с использованием техники ретроградного аксонального транспорта пероксидазы хрена. Раствор маркера вводили под серозную оболочку в область илеоцекального сфинктера и в восходящую часть ободочной кишки (5 см дистальнее илеоцекальной области). Через 48 час животные транскардиально перфузировались физиологическим раствором, а затем – смесью 1% раствора параформальдегида и 1.25% раствора глутаральдегида. На замораживающем микротоме изготавливались продольные и фронтальные срезы (50 мкм) сакральных сегментов спинного мозга, соответствующих им спинальных ганглиев (SI, SII, SIII) и - продолговатого мозга в области задвижки (obex), которые затем обрабатывались по модифицированной методике М.Мезулама

(Mesulam, 1978). Анализ срезов производился с использованием светового микроскопа и программы для компьютерного анализа изображений (Image J, NIH, USA).

После введения раствора маркера в область илеоцекального сфинктера в сакральных сегментах спинного мозга и соответствующих им спинальных ганглиях ретроградно меченых клеток не обнаружено, однако меченые нейроны были выявлены в вентролатеральной части дорсального моторного ядра блуждающего нерва (билатерально, от -0.4 до $+2.2$ мм по отношению к обех). Большой и малый диаметры этих клеток составляли $28.5 \pm 1.3 \mu\text{m}$ и $14.3 \pm 0.6 \mu\text{m}$, соответственно, а площадь сечения - $323.0 \pm 22.6 \mu\text{m}^2$. После введения маркера в восходящую часть ободочной кишки меченые клетки обнаружены в спинальных ганглиях SII (75.7%) и в SIII (24.3%). В сакральных сегментах спинного мозга ретроградно меченых клеток не найдено. В дорсальном моторном ядре блуждающего нерва меченые нейроны локализовались в его вентролатеральной части (билатерально, от -1.0 до $+1.7$ мм по отношению к обех). Большой и малый диаметры этих клеток составляли $27.8 \pm 1.4 \mu\text{m}$ и $15.4 \pm 1.0 \mu\text{m}$, соответственно. Эти нейроны имели площадь сечения равную $335.7 \pm 25.6 \mu\text{m}^2$. Статистический анализ морфометрических характеристик меченых нейронов, иннервирующих исследованные области толстой кишки, показал отсутствие различий между ними.

Таким образом, нейроны сакрального парасимпатического ядра, очевидно, не принимают участия в регуляции деятельности илеоцекальной области и восходящей части ободочной кишки кошки. Парасимпатическая иннервация этих областей толстой кишки осуществляется преганглионарными нейронами дорсального моторного ядра блуждающего нерва. При этом область илеоцекального сфинктера имеет более выраженную иннервацию по сравнению с восходящей ободочной кишкой. В афферентной иннервации восходящей ободочной кишки принимают участие нейроны спинальных ганглиев (SII-SIII).

**Распределение микроорганизмов в акватории нефтегазавани
Севастопольской бухты (Черное море)**

Дорошенко Юлия Валерьевна

аспирант

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины
просп. Нахимова, 2, г. Севастополь, 99011, АР Крым, Украина
e-mail: julia_doroshenko@mail.ru

Применение разработанных отделом морской санитарной гидробиологии ИнБЮМ систем гидробиологической очистки – это один из путей, повышающих способность морских акваторий к самоочищению. Система представляет собой носитель, на котором формируется сообщество обрастания. В свою очередь, развивающееся макрообрастание, состоящее на 90 % из моллюсков – фильтраторов, является субстратом для последующего формирования микроперифитона.

Целью наших исследований было изучение количественного и качественного состава микроорганизмов перифитона в системах гидробиологической очистки, а также микрофлоры морской воды в районе расположения этих систем.

Пробы обрастаний и морской воды отбирались ежемесячно с февраля 2005 г. по январь 2006 г. Обрастания собирались с двух разновидностей систем гидробиологической очистки с помощью скребка, на ручке которого закреплялись полиэтиленовые мешки. Содержимое пакетов переносилось в ведра с плотно прилегающими крышками и транспортировалось в лабораторию, где из ведер отбиралась вода. С помощью батометра на равном удалении от гидробиологических систем отбирали пробы воды. В результате было обработано 24 пробы перифитона и 36 проб воды. Численность гетеротрофных, углеводородокисляющих, липолитических, амилолитических и фенолоксиляющих бактерий определяли методом предельных разведений на соответствующих селективных средах.

На обеих системах значения численности микроорганизмов перифитона значительно колебались в течение года. В частности, значение численности общего количества гетеротрофов варьировало в пределах 10^5 – 10^7 кл/г, численность липолитических микроорганизмов составляла 10^2 – 10^5 кл/г, амилолитических – 10^3 – 10^6 кл/г и фенолоксиляющих бактерий 10^2 – 10^4 кл/г. Колебания численности нефтеокисляющих микроорганизмов были незначительными 10^3 – 10^4 кл/г, но довольно высокие значения подтверждают наличие постоянного

нефтяного загрязнения на этом участке акватории, а также активную трансформацию этого загрязнителя в исследуемых системах.

В воде в районе систем численность общего количества гетеротрофов на 2-3 порядка ниже и составляет $10^3 - 10^4$ кл/мл, численность нефтеокисляющих и фенолоокисляющих микроорганизмов составила $10 - 10^3$ кл/мл. Установлено значительное колебание численности липолитических и амилолитических бактерий $10 - 10^4$ кл/мл. Численность бактерий в воде между системами ниже на несколько порядков по всем группам микроорганизмов и не превышает 10^3 кл/мл для общего количества гетеротрофов.

Постсинаптическая тетанизация гиперполяризующим током вызывает длительное увеличение эффективности синаптической передачи в синапсах, образуемых мшистыми волокнами на пирамидных нейронах области СА3 гиппокампа

Дворжак Антон Юрьевич², Киркланд Леон³

студент, аспирант

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,

Москва, Россия²; Echnos Research Institute, Омаха, США³

E-mail: a_dvorzhak@mail.ru

Предполагается, что посттетаническая потенция (ПП), выраженная в виде длительных изменений эффективности синаптической передачи, отражает основной механизм обучения и памяти в нейронной сети. В нашей работе получены данные о том, что внутриклеточная *импульсная гиперполяризация* (ИГ, 30 пачек длительностью 81,9 мс с частотой 8,46 Гц, длительность импульса 9,1 мс) вызывает значительное увеличение амплитуды возбуждающих постсинаптических потенциалов (ИГ-ПП), вызванных стимуляцией идентифицированных мшистых волокон (МВ). Анализ изменений в выпадении минимальных ответов, ответов на парные стимулы и коэффициента вариации указывает на увеличение выброса нейромедиатора из пресинаптических окончаний. Известно, что гиперполяризация постсинаптической мембраны блокирует возникновение ПП, препятствуя синаптической деполяризации. Наши данные показали, что увеличение внутриклеточного Ca^{2+} является критическим для возникновения ИГ-ПП, поскольку внутриклеточное связывание Ca^{2+} блокировало эффект. По-видимому, увеличение Ca^{2+} связано с работой потенциал-зависимых кальциевых каналов (ПЗКК), т.к. потенциал мембраны фиксировался на уровне -60 мВ и таким образом деполяризация мембраны создавала условия для входа Ca^{2+}

через ПЗКК. Другим возможным механизмом увеличения Ca^{2+} может являться остаточный Ca^{2+} ток после выключения гиперполяризующих импульсов. ПП в большинстве случаев возникает при сочетании постсинаптической деполяризации и пресинаптической активности, являясь, таким образом, ассоциативной. ИГ-ПП могла возникать без сочетания со стимуляцией МВ. Можно предполагать два пути увеличения пресинаптической активности в МВ во время тетанизирующей гиперполяризации – возникновение возвратного возбуждения, связанного с постормозной отдачей в результате снятия инактивации натриевых каналов, и увеличение спонтанного выброса глутамата из пресинапса во время гиперполяризации пирамидного нейрона, благодаря известной позитивной внутрисинаптической электрической обратной связи в больших синапсах. Синаптическая обратная связь между пирамидными нейронами и тормозными интернейронами области СА3 гиппокампа лежит в основе осцилляторной активности, участвующей в таких функциях мозга как избирательное внимание и память. Одним из механизмов генерации и сохранения осцилляций является постормозное возбуждение пирамидных клеток. Наши данные демонстрируют новый механизм длительного увеличения эффективности синаптической передачи во время гиперполяризационных колебаний мембранного потенциала, специфический для больших синапсов. Существование синапсов с такими свойствами на пирамидных нейронах области СА3 наряду с ролью этих нейронов в генерации осцилляций и, возможно, способностью в процессе жизнедеятельности к генерации новых гранулярных клеток, источника МВ, указывает на особую роль нейронной организации области СА3 гиппокампа в процессе обучения и памяти.

Интродукция видов сем. Fabaceae флоры Якутии в ботаническом саду ЯГУ

Евграфова Анжелика Афанасьевна
студентка

Якутский государственный университет им. М.К. Аммосова, Якутск,
Россия

E-mail: borisova@sitc.ru

В условиях Якутии использование ряда декоративных растений ограничено; в то же время в экстремальных условиях возник уникальный генофонд растений, устойчивых к неблагоприятным

факторам климата. Особое внимание уделяется декоративным растениям Якутии, имеющим ряд преимуществ перед летниками, применяемыми для озеленения г. Якутска. Многолетние растения местной флоры отрастают сразу со сходом снега, обладают высоким ритмом роста в I половине лета и ранним цветением; летники наибольшего декоративного эффекта достигают лишь с середины июля. Наиболее устойчивыми к условиям культуры являются степные растения. К наиболее широко представленным семействам в степной флоре Якутии, как в родовом, так и в видовом отношении, относится семейство Fabaceae.

Интродукционное испытание прошли представители 6 родов из 8 (*Astragalus*, *Medicago*, *Onobrychis*, *Oxytropis*, *Thermopsis*, *Trifolium*). В культуру привлечено 12 из 19 видов (63% степных видов семейства). Благодаря приспособительным свойствам интродукционные возможности степных видов достаточно высоки. За исключением *Thermopsis lanceolata* subsp. *jacutica* все интродуценты проходят полный цикл развития побегов до плодоношения. В условиях культуры отмечается высокая побегообразовательная способность, возрастает семенная продуктивность. Отсутствие семенного возобновления *Thermopsis* восполняет вегетативным.

По длительности вегетации надземных органов интродуценты делятся на 2 группы - длительно вегетирующие (вечнозеленые, весенне-летне-осенне-зимнезеленые и весенне-летне-осеннезеленые), коротко вегетирующие (весенне-летнезеленые, летнезеленые) виды. По срокам цветения большинство интродуцентов относятся к весеннецветущим и раннелетнецветущим растениям. Поздним цветением отличается *Medicago falcata* (III декада июля). Большинство степных растений обладают длительной вегетацией побегов и цветением в I половине лета, что является ценным качеством в период с мая по июнь в условиях Центральной Якутии.

Интродукция степных растений может быть использована для широкого применения в практике озеленения высокодекоративных степных видов, которые отличаются неприхотливостью, морозо- и засухоустойчивостью, оригинальностью облика, ранним сроком цветения.

**Взаимодействие гадолиния с ДНК в изотропном и
жидкокристаллическом состоянии**
Евсеев Алексей Игоревич*, Кондрашина Ольга Владимировна**
*студент, **аспирант
*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
** Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда РАН
E-mail: daspublishing@list.ru

В основе нейтронозахватной терапии (НЗТ) опухолей лежит реакция захвата тепловых нейтронов нерадиоактивным элементом, сопровождаемая вторичным излучением, разрушающим клетки опухолевой ткани. Одним из таких элементов является гадолий (Gd). В случае Gd-НЗТ используется реакция захвата нейтронов атомами ^{157}Gd : $^{157}\text{Gd} + n \rightarrow ^{158}\text{Gd} + e + \gamma$.

При практическом использовании Gd-НЗТ возникают проблемы токсичности вводимого иона (Gd^{3+}) и точной дозировки, которые решаются за счет безопасного органического носителя для доставки препарата Gd *in vivo*. Предлагаемый нами переносчик представляет собой частицы холестерической жидкокристаллической дисперсии (ХЖКД) двуцепочечных молекул ДНК, микроскопического размера, содержащих ионы. В таких частицах концентрация редкоземельных элементов достигает 200 мг/мл (30%), что делает их использование перспективным по сравнению с аналогами.

Предпринята попытка изучения механизма взаимодействия Gd как с линейной и жидкокристаллической формами ДНК. На рис.1 показано изменение спектра кругового дихроизма (КД) линейной формы ДНК при взаимодействии с Gd, на рис.2 спектры КД при взаимодействии Gd с ДНК в составе ХЖКД. Образование частиц сопровождается появлением аномальной отрицательной полосы в области поглощения азотистых оснований (260 нм) в спектре КД. Добавление ионов редкоземельных элементов к готовым частицам приводит к увеличению амплитуды аномальной полосы.

Измерение низкотемпературной магнитной восприимчивости частиц ХЖКД, сформированных из комплекса (ДНК- Gd^{3+}), показало, что на 1 фосфатную группу ДНК приходится приблизительно 1 атом Gd. Впервые проведенная визуализация частиц ХЖКД при помощи атомной силовой микроскопии показывает, что размер частиц составляет в среднем 5000 Å. Получены кривые “КД-плавления” частиц ХЖКД в зависимости от концентрации Gd. Присутствие ионов Gd^{3+} снижает температуру КД-плавления. Это может быть объяснено механизмом

взаимодействием ионов Gd^{3+} с молекулами ДНК, при котором изменение структуры ДНК препятствует образованию ХЖКД.

Противоопухолевая активность полисахаридов *Ganoderma lucidum* и её изменение в процессе онтогенеза.*

Евсенко Мария Сергеевна, Автономова А.В.

Студент

ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН,
Москва, Россия

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского, Москва, Россия
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: maria.evsenko@mail.ru

Клеточные стенки грибов содержат разнообразные полисахариды, многие из которых представляют интерес как биологически активные соединения. Базидиальный гриб *Ganoderma lucidum*(Curt.:Fr.)P. Karst. в данном аспекте является одним из самых популярных объектов исследований. Было установлено противоопухолевое действие полисахаридов этого гриба. В процессе исследования биологических свойств водорастворимых полисахаридов, экстрагированных из погружённого мицелия штамма 5 *G. lucidum* (коллекция лаборатории биосинтеза биологически активных соединений ГУ НИИНА им. Г.Ф.Гаузе РАМН), проводили сравнительное изучение противоопухолевых свойств штамма 5 на различных этапах онтогенеза. Проведено сравнение моносахаридного состава и противоопухолевого действия полисахаридов мицелия, примордиев и плодовых тел *G. lucidum*. Мицелий получен методом погружённого культивирования, примордии и плодовые тела – по интенсивной методике получения базидиом. Полисахаридные фракции мицелия, примордиев и плодовых тел были получены из водных экстрактов штамма 5 *G. lucidum*. Моносахаридный состав полисахаридных фракций определяли с помощью газожидкостной хроматограммы. Показано различие в моносахаридном составе полисахаридных фракций(табл.).

Таблица. Моносахаридный состав водорастворимых полисахаридов
Ganoderma lucidum.

углеводы	Мицелий (процентное содержание углеводов)%	Примордии (процентное содержание углеводов)%	Плодовые тела (процентное содержание углеводов)%
рамноза	0,674	следовое кол-во	следовое кол-во
арабиноза	3,272	2,151	3,044
ксилоза	1,377	следовое кол-во	следовое кол-во
манноза	2,077	1,993	2,317
глюкоза	14,853	18,289	27,42
галактоза	11,887	7,683	7,447

Результаты сравнительного анализа противоопухолевого действия полисахаридов мицелия и плодовых тел *G.lucidum* при пероральном введении мышам с привитым подкожно лимфолейкозом Р388 показали, что, несмотря на различия в моносахаридном составе, эффект препаратов, оцениваемой по торможению роста опухоли, одинаков. Было показано торможение роста опухоли и по окончании курса лечения.

**Анатомическое строение ассимиляционного аппарата лиственницы
Сукачёва (*Larix sukaczewii* Dyl.) в промышленной зоне города
Стерлитамака**

Егорова Наталья Николаевна

младший научный сотрудник
Институт биологии УНЦ РАН, Уфа, Россия
E-mail: smu@anrb.ru

Особенности анатомического строения поперечного среза хвои лиственницы Сукачёва (*Larix sukaczewii* Dyl.) на отвалах промышленной зоны г. Стерлитамака представляет теоретический и практический интерес. Основными источниками загрязняющих окружающую среду г. Стерлитамака являются предприятия химической промышленности – АО «Сода» и ЗАО «Каустик» (60%) и предприятия электроэнергетики – Стерлитамакская ТЭЦ (34%), чем определяется полиметаллическое аэротехногенное загрязнение окружающей среды. Объектами исследований является хвоя растений *Larix*, отобранная в культурах, произрастающих в промзоне Стерлитамака. Возраст насаждений - 40 лет. Поперечные срезы толщиной 20 мкм, приготовленные с использованием санного микротомы (МС-2), исследовали на световом микроскопе Amplitval (Carl Zeiss Jena,

Germany). Статистическая обработка результатов проводилась общепринятыми методами с использованием электронного пакета MS Excel 2000.

В промзоне г. Стерлитамака в течение вегетационного периода наблюдается увеличение толщины верхнего эпидермиса, верхней столбчатой паренхимы, верхней эндодермы, склеренхимы, нижней столбчатой паренхимы, нижнего эпидермиса. В то же время происходит уменьшение толщины флоэмы, нижней трансфузионной паренхимы, нижней эндодермы и нижней столбчатой паренхимы. Толщина ксилемы, верхней и нижней гиподермы остаются без изменений. Процентное соотношение площади смоляных ходов к площади поперечного среза хвои достоверно не изменяется при произрастании в исследуемых лесорастительных условиях, оставаясь на уровне 0,1%. В хвое *Larix* имеется два смоляных хода.

Изучены особенности анатомического строения ассимиляционного аппарата лиственницы. При произрастании в условиях полиметаллического загрязнения толщина хвои лиственницы Сукачёва (*Larix sukaczewii* Dyl.) в течение вегетационного периода увеличивается за счёт утолщения верхних тканей ассимиляционного аппарата.

Методические аспекты организации фенологических наблюдений на территории г. Петрозаводска.

Елькина Надежда Александровна, ассистент, аспирант

Марковская Евгения Фёдоровна, профессор, д.б.н.

Петрозаводский государственный университет Эколого–биологический факультет Кафедра ботаники и физиологии растений

Петрозаводск, Россия

z_nat2003@mail.ru

Петрозаводск, крупный город площадью 100 кв. км, расположен на юго-западном берегу Онежского озера. Его территория отличается значительной расчлененностью и гетерогенностью природной среды. Рельеф города среднехолмистый, высота над уровнем моря 100-180 м. Город располагается у озера на 3 озерных террасах, где были выделены наиболее контрастные по климатическим условиям участки для проведения фенологических наблюдений. Объектами исследований являются 5 модельных видов (*Salix caprea*, *Populus balsamifera*, *Urtica dioica*, *Rumex acetosa*, *Artemisia vulgaris*) – для проведения аэропалинологических исследований.

В ходе фенологических наблюдений выявлено, что средние значения времени прохождения фенологического развития изучаемых видов на всех участках–террасах одинаковы и не зависят от расстояния до озера. Анализ начала и продолжительности цветения исследуемых видов на каждой террасе с учетом широкого спектра локальных экотопов показал некоторые различия (в пределах 2-3 суток). Одним из ведущих факторов является положение растений в пределах жилой застройки. Так в районах с высотной и плотной застройкой количество зацветших особей на момент исследования было заметно ниже (около 11-15% от общего числа наблюдаемых), чем в районах с низкотажной и разреженной застройкой (20-25%).

Исследования показали, что при выборе опытных площадок для фенологических наблюдений в пределах г. Петрозаводска нужно учитывать локальные условия произрастания растений и их приуроченность к террасе. Результаты дают основание для выбора места положения пылевой ловушки – в пределах любой террасы города с учетом имеющихся рекомендаций по организации аэропалинологического мониторинга в удобном для проведения исследований месте.

Изучение нейропсихологического статуса и функциональной зрелости мозга детей 7-8 лет с разным уровнем сформированности речи.

Емельянова Татьяна Валерьевна

аспирант

Поморский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Архангельск, Россия,

E-mail: tata13@atnet.ru

Речь является одной из самых сложных высших психических функций человека. Речевая функция широко распределена в мозгу, а речевые структуры в значительной степени полифункциональны. Особенно важным для осуществления речевой функции является сохранение взаимодействия множества речевых зон, где каждое звено вносит свой вклад в работу всей вербальной системы. Цель нашего исследования состояла в выявлении особенности функционального состояния и функциональной зрелости мозга детей 7-8 лет с разным уровнем сформированности речи. Обследовано 130 учащихся общеобразовательной школы № 17 г. Архангельска в возрасте 7-8 лет. Анализ сформированности устной речи (СУР) (Фотекова, 2000)

позволил выделить 3 группы учащихся: 27 школьников со II уровнем СУР – выраженное общее недоразвитие речи (ОНР); 73 ребенка с III уровнем СУР (негрубое ОНР); 30 учащихся с IV уровнем СУР (нормальное речевое развитие).

Статистический анализ показал, что дети с IV уровнем СУР имели достоверно более высокие оценки по всем компонентам устной речи (звукопроизношение, артикуляция, фонематическое восприятие, звуко-слоговая структура слов, грамматический и лексический строй речи, связность речи) по сравнению с учащимися II уровня ($p < 0,05-0,001$). Дети с III уровнем СУР занимают промежуточное положение, как следствие, эта группа не по всем параметрам речевой функции достоверно отличается от остальных. Нейропсихологический анализ параметров слуховой и зрительной памяти (Симерницкая, 1991) обнаружил у 54% детей со II уровнем СУР модально-неспецифические изменения психической деятельности, свидетельствующие о дисфункции глубоких структур мозга. У 32% школьников с IV уровнем СУР были выявлены модально-специфические дисфункции. По нейропсихологической организации памяти дети с III уровнем СУР снова выступают как промежуточная группа: здесь не наблюдается преобладания какой-либо дисфункции. Визуальный структурный анализ электроэнцефалограммы (ЭЭГ) (Лукашевич и др., 1994) выявил достоверные различия параметров функциональной зрелости мозга у детей обследованных групп. Наибольшие различия были получены между испытуемыми II и IV уровня СУР по функциональной зрелости мозга и в распределении ЭЭГ-признаков, характеризующих состояние глубинных структур ($p < 0,05-0,0001$). У 50% испытуемых со II уровнем СУР отмечались признаки функциональной незрелости фронто-таламической системы, локальные глубинные изменения выявлены у 21%. Такие нарушения у детей с IV уровнем СУР не наблюдалось. Функциональные изменения мезодизэнцефального происхождения были выявлены у 75% детей с выраженным ОНР и у 10% учащихся с нормальным речевым развитием. Мы предполагаем, что мозговые дисфункции вызваны неблагоприятным ранним развитием детей, что, вероятно, обуславливает присутствие нарушений даже в группе с нормальным речевым развитием. Анализ медицинских карт свидетельствует, что все дети со II и III уровнем СУР имели в анамнезе ОНР, фонетико-фонематическое недоразвитие, дислалию, дизартрию. Незначительные нарушения речевого развития (нарушения звукопроизношения) выявлены у 64% испытуемых с IV уровнем СУР.

**Изучение действия некоторых биологически активных веществ
на функциональную активность перитонеальных тучных клеток
крыс**

Ефремова Елена Александровна

студентка

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова.

Биологический факультет. Москва. Россия.

E-mail: Efremova-Biophysic@yandex.ru

Тучные клетки (ТК) ответственны у млекопитающих за реализацию гиперчувствительности I типа, которая лежит в основе развития бронхиальной астмы, лекарственной и пищевой аллергии и других патологических состояний. Эти реакции индуцируются действием на ткань биологически активных веществ, высвобождающихся из ТК после их дегрануляции в ответ на воздействующий фактор, - например, гистамина, который связывают с развитием аллергических реакций. Дегрануляция ТК, вызываемая рядом соединений (веществом 48/80, ионофором A23187), является моделью для изучения экзоцитоза.

Целью данной работы являлось исследование влияния применяемых в медицине препаратов нитропруссид натрия и церулоплазмينا на процессы дегрануляции перитонеальных ТК. Чистую фракцию ТК из перитонеальной жидкости крыс получали центрифугированием в градиенте плотности фиколла. Дегрануляцию ТК оценивали по высвобождению из них гистамина, определяемого флюориметрическим методом. Процесс дегрануляции ТК контролировали также с применением электронной интерференционной микроскопии (ЭИМ).

Показано, что нитропруссид натрия и церулоплазмин в экспериментах *in vitro* не влияют на индуцированную веществом 48/80 дегрануляцию ТК, что свидетельствует об отсутствии их прямого действия на активацию ТК. Однако в экспериментах *in vivo* нитропруссид натрия увеличивал степень индуцированной веществом 48/80 дегрануляции ТК, в то время как церулоплазмин ее ингибировал, что указывает на наличие проаллергических свойств у нитропрусида натрия и антиаллергических у церулоплазмينا. Наблюдаемые эффекты были подтверждены данными ЭИМ. В настоящей работе доказана существенная роль опосредованного влияния нитропрусида натрия и церулоплазмينا на процесс активации ТК и необходимость проведения экспериментов *in vivo* для выявления побочного действия лекарственных препаратов. Обсуждаются некоторые механизмы полученных эффектов.

Пико-нано флуорометрия процессов преобразования энергии света в ФС2 *Chlamydomonas reinhardtii* в условиях серного голодания.

Загидуллин Вадим Эдуардович, Волгушева Алена Александровна

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

студент 5 к., аспирантка 3 г.о.

E-mail: vad-zag@yandex.ru, volgusheva_alena@mail.ru

В связи с уменьшением запасов естественных энергоресурсов большое значение приобретают поиски их замены. Выделяемый биообъектами H_2 можно рассматривать как альтернативный, возобновляемый источник энергии. Зеленые микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* образуют H_2 на свету при инкубации на среде без серы. В связи с этим важное значение имеет изучение структурных и функциональных изменений в клетках при S-голодании. Перестройка метаболизма в условиях недостатка S затрагивает активность ФС2, играющую важную роль в образовании H_2 , поскольку донором электронов для гидрогеназы является вода, процесс чувствителен к диурону. Методом модулированной флуорометрии показаны изменения ряда параметров флуоресценции хлорофилла в клетках *C. reinhardtii* в условиях недостатка S. Отмечалось увеличение интенсивности флуоресценции хлорофилла (F_0 и F_m) на единицу концентрации хлорофилла, содержание которого в клетках не изменялось в ходе голодания. Это увеличение при серном голодании частично может быть следствием диссоциации части периферических антенн от реакционных центров ФС, изменением эффективности процессов нефотохимического тушения или перераспределением вероятностей дезактивации возбужденных состояний антенны, возникающей при поглощении света.

Для выяснения особенности функционирования РЦ ФС2 при S-голодании исследовали клетки *C. reinhardtii* и культуры, выращенной в отсутствие S методом кинетической флуорометрии в пико-нано секундном временном диапазоне. В процессе голодания кинетики флуоресценции измеряли через 24, 48 и 72ч. При каждом измерении контрольные образцы и голодающие по S клетки поддерживались в состоянии с открытыми и закрытыми РЦ ФС2 (F_0 и F_m уровень флуоресценции). Кинетики затухания флуоресценции аппроксимировались в двух или трехэкспоненциальном приближении согласно модели Шатца. Самый быстрый компонент (~ 100 пс) связывали с временем миграции энергии от антенного комплекса к

P680, средний по длительности компонент относили ко времени переноса электрона на Qa, наиболее медленный компонент (~ 2нс) соответствовал процессу рекомбинации зарядов в ион-радикальной паре P⁺ФФ⁻ в закрытых (Qa⁻) РЦ. В голодающих по S клетках основные изменения в кинетике затухания флуоресценции связаны с увеличением в 2-3 раза относительного вклада медленных компонентов в общий выход флуоресценции на уровне Fo и Fm. Изменения в характере индукционных кривых голодающих клеток по сравнению с контролем объяснены изменением эффективности межкомплексного (ССК - РЦ) взаимодействия и нарушениями состояния донорной и акцепторной цепей электронного транспорта.

Поддержано грантами РФФИ 04-04-48250-а и 05-04-48606.

Glu,Asp-специфичная протеиназа *Bacillus cereus*

Зайнетдинова А.Х., Габдрахманова Л.А.

студентка

Казанский государственный университет, Казань, Россия

E-mail: aidochka_ksu@mail.ru

Bacillus cereus – условно-патогенный спорообразующий микроорганизм, вызывающий пищевые токсикоинфекции, а также ряд оппортунистических инфекций. В отдельных случаях *B.cereus* может являться причиной порчи пищевых продуктов (прогоркание сливок, прокисание молока и т.д.). Бактерии *B.cereus* секретируют в среду широкий спектр гидролитических ферментов, среди которых – Glu,Asp-специфичная протеиназа, или глутамилэндопептидаза (КФ 3.4.21.19) – фермент, который расщепляет пептидные связи, образованные α-карбоксильными группами глутаминовой и аспарагиновой кислот. Предположительно этот фермент играет важную роль в патогенезе бактерий, однако к настоящему времени крайне мало изучен. Для *Staphylococcus aureus* имеются сведения о том, что глутамилэндопептидаза является эпидермолитическим токсином. У *B.cereus*, как и у стафилококков, данный фермент может участвовать в процессах патогенеза и, следовательно, подробное исследование структуры и функций глутамилэндопептидазы интересно с точки зрения профилактики и предотвращения развития кишечных диарейных инфекций. Целью настоящей работы явилось исследование особенностей биосинтеза глутамилэндопептидазы *B.cereus Frankland THT*.

На первом этапе исследования определили закономерности роста *B.cereus Frankland THT* и накопления глутамилэндопептидазы в культуральной жидкости этого штамма. Установлено, что глутамилэндопептидаза появляется в культуральной жидкости *B.cereus* в стадии замедления роста культуры – на 7-й час культивирования, а максимум продукции фермента достигается в стационарной фазе роста и имеет два пика. Первый максимум продукции протеиназы обнаруживается в ранней стационарной фазе роста (10-11 час культивирования), второй максимум – на более позднем этапе развития культуры (22 час). Оптимальным для развития культуры *B.cereus* и продукции глутамилэндопептидазы значением pH среды является 7,0–7,5. Неорганический фосфат в концентрации 0,4 г/л увеличивает продукцию глутамилэндопептидазы и в ранней, и в поздней стационарной фазе в 2-3 раза. В результате проведенных экспериментов подобрана питательная среда, обеспечивающая эффективную продукцию глутамилэндопептидазы *B.cereus*. В предварительных исследованиях установлено, что температурный оптимум действия глутамилэндопептидазы *B.cereus* равен 50° С, а оптимум pH находится в интервале значений 8,5-9,5.

**Влияние гипокинетического стресса на иммунологическую
реактивность у животных**

Заячникова Татьяна Валентиновна

аспирант

Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского,

Симферополь, Украина

E-mail: timur@crimea.edu

Проблема изменения иммунологической реактивности в последние годы приобретает все большую актуальность в связи с ростом иммунодефицитных состояний различного характера. Кроме того, человек и животные постоянно подвергаются действию стрессоров – эмоционального, гипокинетического, болевого, перенаселения, температурного и других, поэтому большинство иммунологических процессов разворачивается на фоне стресса, и изучение механизмов и эффектов развития защитных реакций организма в таких условиях имеет существенное значение для теории и практики физиологии и медицины.

В связи с этим исследовано влияние хронического стресса на изменение неспецифической иммунологической реактивности организма

животных. Стресс моделировался ограничением подвижности гипокинезией, что достигалось помещением крыс в специальные кассеты из оргстекла (140 × 60 × 60 мм для каждой крысы), в которых они находились в течение 9-ти суток по 20 часов в сутки.

Показано, что развитие инфекционного процесса в периферической крови интактных крыс после введения им *Mycoplasma hominis* привело к заметному повышению продукции цитокинов (фактора некроза опухолей- α и интерферона- γ), существенному увеличению активности бактерицидных, гидролитических и энергетических систем нейтрофилов и лимфоцитов, развитию неспецифической адаптационной реакции стресса.

При этом предварительное девятисуточное ограничение подвижности, соответствующее стадии тревоги гипокинетического стресса, модифицировало адаптационные реакции у животных на развитие инфекционного процесса, что проявлялось в существенном угнетении показателей неспецифической иммунологической реактивности (снижение содержания в крови интерферона- γ и фактора некроза опухолей- α), резистентности и противоиной защиты (бактерицидных, гидролитических и энергетических систем) нейтрофилов и лимфоцитов, развитию неспецифической стресс-реакции у инфицированных крыс.

Таким образом, последовательное действие гипокинетического стресса и инфицирования приводит к существенному угнетению неспецифической резистентности и иммунологической реактивности у животных.

**Афиллофороидные макромицеты в лесных экосистемах
Национального парка «Водлозерский»**

Заводовский Петр Геннадьевич

Студент

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

E-mail: petr1483@mail.ru

Целью наших исследований является установление видового состава афиллофороидных макромицетов в лесных экосистемах НП «Водлозерский» и их взаимосвязи с компонентами лесных фитоценозов. Объектами исследования служили афиллофороидные макромицеты в старовозрастных хвойных и лиственных лесах Водлозерского национального парка (о. Колгостров, о. Ильинский погост, о.

Пелгостров, о Канзанаволок, лесные экосистемы деревни Куганаволок, побережья рек Сухая Водла, Новгуда, Илекса). Исследования проводились в 2004-2005 гг. При сборе и определении коллекции использовали методику составления гербария. На территории парка в старовозрастных хвойных лесах и вторичных мелколиственных лесах было выявлено 94 вида афиллофороидных макромицетов, относящихся к 50 родам, 12 семействам и 6 порядкам. На исследуемых территориях преобладают ельники черничные и сосняки брусничные и встречаются березняки чернично-разнотравные. В лесных экосистемах НП «Водлозерский» видовое разнообразие афиллофороидных грибов объясняется разновозрастным состоянием фитоценозов, наличием подроста и старых перестойных деревьев, причем более богатый видовой состав наблюдается у побережья, где действуют важные экологические факторы: свет, ветер, температура. Из собранных видов *Phellinus chrysoloma* является индикатором для старых лесов, а *Dichomitus squalens* и *Phlebia centrifuga* – индикаторами для очень старых лесов. Впервые на территории НП «Водлозерский» на валежном стволе *Larix sibirica* был отмечен и загербаризирован *Phellinus niemelaei*, а на валежном стволе *Betula pendula* - *Antrodia heteromorpha*. В процессе исследования, также были найдены следующие виды грибов: *Armillariella mellea* на *Populus tremula* (Agaricales); *Nectria galligena* на *Alnus glutinosa* (Hypocreales); *Pleurotus pulmonaris* на *Betula pubescens* (Gomphales).

Изменение соотношения различных форм лейкоцитов крови и костного мозга при остром перегревании организма
Зубарева Екатерина Владимировна, Павлов Николай Александрович
Студентка, студент

Белгородский государственный университет, биолого-химический факультет, Белгород, Россия
E-mail: zubareva-e@yandex.ru

Целью проведенного исследования была оценка изменений клеточного состава лейкоцитарного пула периферической крови и костного мозга в сравнении с динамикой морфофункциональных изменений надпочечников у крыс, в условиях экзогенного перегревания организма. Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица. Морфофункциональные изменения в крови, костном мозге и надпочечниках в условиях гипертермии

Группа	Лейкоцитарная формула крови				
	Лимфоциты, %	Нейтрофилы, %	Моноциты, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %
Контроль	69,2±1,2	28,2±1,1	2,0±0,1	0,4±0,05	0,2±0,03
Перегревание	78,5±0,9*	18,2±0,9*	2,5±0,1*	0,6±0,06	0,3±0,05
Группа	Морфофункциональные изменения в костном мозге и надпочечниках				
	Лимфоциты, %	Нейтрофилы, %	Толщина коркового слоя надпочечников, %	Диаметр ядер клеток пучковой зоны, мкм	Митотический индекс, %
Контроль	21,2±1,2	65,8±1,3	71±0,7	5,1±0,01	0,12±0,005
Перегревание	44,2±1,4*	52,5±0,7*	77±0,7*	5,5±0,01*	0*

Примечание: * - достоверность различий по сравнению с контролем по критерию Стьюдента ($p < 0,01$).

Интенсивное тепловое воздействие сопровождалось существенным уменьшением числа циркулирующих в крови лейкоцитов (с $17,9 \pm 0,6$ тыс./мкл в контроле до $9,2 \pm 1,1$ тыс./мкл у экспериментальных животных, $p < 0,05$), лимфоцитозом и нейтропенией. Аналогичные сдвиги зарегистрированы в клеточном составе костного мозга. Выявленные изменения противоположны регистрирующимся при общем адаптационном синдроме и могут быть отнесены к числу специфических проявлений гипертермии. Изменения со стороны надпочечников характеризуют развитие типичной стресс-реакции с высокой напряженностью функционирования организма. Т.е. термическая нагрузка на ранних стадиях вызывает направленные тепловым воздействием сдвиги клеточного состава крови и костного мозга, отражающие срочную адаптацию организма к экстремальному фактору среды на фоне развивающейся стресс-реакции.

Влияние острой кровопотери на параметры метаболизма кислорода и энергетический обмен гепатоцитов.

Иванская Наталья Николаевна

аспирант

Ульяновский государственный университет, Ульяновск, Россия

E-mail: nivanskaya@yandex.ru

Печень является важным органом при обеспечении метаболической компенсации острого дефицита крови. Для разработки схем коррекции постгеморрагических состояний необходимо изучение изменений метаболизма гепатоцитов, возникающих при потере крови.

Цель работы: изучить влияние острой кровопотери на параметры метаболизма кислорода в печени.

Циркуляторную гипоксию вызывали по Sapirstein (1960), объем кровопотери составил 0,75% от массы тела крысы. Через 3, 7 и 24 часа с момента кровопотери в гомогенате печени определяли активность цитохромоксидазы (ЦХО) по Vernon (1969), сукцинатдегидрогеназы (СДГ) по Slater (1959), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) по Меньшикову В.М. (1987), концентрацию АТФ по Алейниковой Т.Л. (1988). Данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента и уровня значимости $p < 0,05$.

В результате исследований было установлено, что концентрация АТФ через 3 часа и 7 часов после кровопотери достоверно падает по отношению к уровню у интактных животных на 36,02% и 32,84% соответственно. Спустя 24 часа количество АТФ восстанавливается практически до исходного уровня. Активность ЦХО спустя 3 часа после воздействия достоверно падает на 28,74%, через 7 часов активность фермента восстанавливается и сохраняется в дальнейшем на уровне интактных животных. Активность СДГ через 3 часа и 24 часа после кровопотери достоверно возрастает по отношению к норме на 155,66% и 64,59% соответственно; спустя 7 часов имеется тенденция к снижению активности фермента на 18,44%. Активность ЛДГ на сроках 3 часа и 24 часа достоверно повышается на 31,01% и 66,69% соответственно; на сроке 7 часов после кровопотери имеется тенденция к уменьшению активности фермента на 10,39% по отношению к уровню интактных животных (рисунок).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что после кровопотери происходит снижение энергообеспечения гепатоцитов. Восстановление концентрации АТФ происходит к 24 часам. При этом активность конечного звена цепи дыхательных ферментов – ЦХО через 3 часа

снижена, а к 7 часам восстанавливается до нормы. Показатель анаэробного гликолиза (ЛДГ) и показатель энергетического обмена, фермент II дыхательного комплекса - СДГ изменяются волнообразно: повышаются на сроке 3 часа, снижаются ниже интактного уровня через 7 часов и снова повышаются к 24 часам.

Анализ гетерогенности популяций ольхи (*Alnus Mill., Betulaceae*)

Севера Европейской части России

Ильинский Валерий Владимирович,

Учащийся 11 класса,

Московская Гимназия на Юго-западе 1543, Россия, Москва

alnus_kolaensis@yahoo.co.uk

Ребриков Денис Владимирович,

кандидат биологических наук,

ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия, Москва

Шипунов Алексей Борисович,

кандидат биологических наук,

University of Idaho, USA, Moscow

Alnus incana – самый распространенный вид ольхи Евразии. Хорошо известен полиморфизм *A. incana*, причем отдельные популяции настолько своеобразны, что некоторые авторы относят их к самостоятельным видам (например, *A. kolaënsis* Orlova, произрастающая на юго-востоке Фенноскандии, в Норвегии и на Кольском полуострове). Исследователи по-разному понимают таксономический статус кольской ольхи. С целью прояснения сложившейся ситуации проведен анализ нуклеотидной последовательности участка рРНК и морфометрический анализ листовой пластинки у представителей рода *Alnus Miller*: *A. incana*, *A. glutinosa*, *A. kolaënsis*.

Анализ листовой пластины произведен методами классической и геометрической морфометрии. Произведено секвенирование последовательности внутреннего транскрибируемого спейсера района рРНК (ITS1) у *A. incana*, *A. glutinosa* и *A. kolaënsis*. Полученные морфологические данные очень полиморфны, однако на графике главных компонент выделяются три «облака», соответствующие *A. incana*, *A. glutinosa* и *A. kolaënsis*, что свидетельствует в пользу придания кольской ольхе таксономического статуса. Обнаруженная по данным секвенирования гетерозигота (предположительно являющаяся гибридом *A. incana* × *A. kolaënsis*) занимает промежуточное положение. По молекулярным данным *A. incana* и *A. kolaënsis* близки, однако

различия между ними сравнимы с различиями между *Betula pendula* и *B. pubescens*, что подтверждает значимость этих отличий. Таким образом, на основании полученных морфометрических и молекулярных данных *A. kolaënsis* необходимо считать самостоятельным видом.

Для этого образца характерны яйцевидные листья с тупой верхушкой 60 × 40 мм, семью жилками первого порядка, снизу по жилкам рассеянно опушенные.

Впервые определенный участок ДНК кольской ольхи был занесен в базу данных NCBI (acc. number DQ341295).

Идентификация нормальных и мутантных фенотипов альфа-1-антитрипсина методом изоэлектрофокусирования

Исмаилова Айгюн Биал кызы

диссертант

Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан

ayguni@mail.ru

Для популяционных исследований по изучению нормальных и мутантных фенотипов α 1-Антитрипсина (α 1A) среди населения Азербайджанской Республики использовали метод изоэлектрофокусирования сывороточных белков крови в полиакриламидно-амфолиновых пластинках (рН 4-6).

Обследовано 869 человек; 515 школьника, 120 больных детей с заболеваниями печени и легких и 234 родителей и сибсов пробандов. Идентифицировано 3 нормальных фенотипа PiM аллеля; M1, M2 и M3, в гомозиготном; M1M1, M2M2 и M3M3 и в двойном гетерозиготном - компаундном состояниях: M1M2, M1M3 и M2M3. Частота аллелей M1, M2 и M3 варьировало в пределах; 35,9%-40,9%, 33,7%-39,8% и 19,7%-30,4% при средней – 37,5%, 36,8% и 25,7%, соответственно.

В 2 случаях среди школьников обнаружили гетерозиготное носительство PiZ аллеля с фенотипической частотой - 0,19% и частотой гена - 0,0083 (в долях единицы). Среди родителей и сибсов дополнительно выявлены 13 случаев с PiZ аллелем. У 3 школьников обнаружено гетерозиготное, у 2 гомозиготное состояние PiS аллеля. Дополнительно среди родителей и сибсов пробандов выявлен 5 случаев с PiS аллелем. Среди четырех членов одной семьи идентифицирован PiF аллель. Выявление мутантных α 1A аллелей позволит врачам педиатрам квалифицированно проводить лечение больных детей с заболеваниями печени и легких. При наличии мутантных α 1A аллелей рекомендуем

проводить профилактику этих заболеваний в виде медико-генетического консультирования.

**Внутривидовой полиморфизм структуры нетранскрибируемых
спейсеров рибосомной ДНК рыжего таракана *Blattella germanica*:
анализ наследования различных структурных вариантов**

Каграманова Арина Сергеевна, Муха Дмитрий Владимирович.

аспирант

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии
наук, Москва, Россия

E-mail: arisha-kag@mail.ru

Нетранскрибируемый спейсер является наиболее вариабельной частью рДНК эукариот, что позволяет использовать полиморфизм этого участка генома в качестве маркера для популяционных и филогенетических исследований. В ходе работы выявлен внутривидовой полиморфизм структуры нетранскрибируемых спейсеров рибосомной ДНК рыжего таракана и проведен анализ наследования различных структурных вариантов.

Кластер рибосомальных генов у *Blattella germanica* локализован в X-хромосоме; самки содержат в геноме 2 X-хромосомы, самцы – 1. Обе хромосомы самки-родителя ($P_{\text{♀}}$) содержат кластеры рДНК, у которых после рестрикции Hind III и блот-гибридизации с соответствующим зондом выявляются фрагменты одинаковой длины. X-хромосома самца-родителя ($P_{\text{♂}}$) содержит кластер рДНК, отличный от такового самки: после рестрикции Hind III и блот-гибридизации выявляется один фрагмент большего размера, чем у $P_{\text{♀}}$. (несколько структурных вариантов нетранскрибируемого спейсера могут содержаться в составе одного генома). Все самцы F_1 должны содержать одну из хромосом $P_{\text{♀}}$, а самки F_1 одну из хромосом $P_{\text{♀}}$ и одну от самца $P_{\text{♂}}$, что и наблюдалось в эксперименте.

Анализ F_2 показал, что самцы F_2 содержат одну из родительских X-хромосом, а самки F_2 две хромосомы в разных сочетаниях. Все исследованные самцы не содержали рекомбинантных X-хромосом, то есть X-хромосом, образованных в результате рекомбинации между хромосомами $P_{\text{♀}}$ и $P_{\text{♂}}$ в районе кластера рибосомных генов. Аналогичный результат был получен при анализе самцов F_{12} – рекомбинантов также не было выявлено. Следовательно, X-хромосомы, содержащие различные типы NTS, стабильно поддерживаются в ряду поколений.

Некоторые свойства малого белка теплового шока с молекулярной массой 22 кДа (Hsp22) и его точечных мутантов K141E, K137E и K137/141E.

Казаков А.С.

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия.

E-mail: fenixfly@yandex.ru

Малые белки теплового шока (sHsp) участвуют в защите клеток от различных неблагоприятных воздействий, играют важную роль в регуляции функционирования цитоскелета, могут участвовать в процессах клеточного цикла и апоптоза. У человека экспрессируется 10 различных sHsp; одним из них является недавно описанный и малоизученный Hsp22. Точечные мутации вблизи «горячих» точек sHsp (остатки 137-141 Hsp22) коррелируют с развитием ряда врожденных заболеваний. Были получены препараты рекомбинантного Hsp22 человека и его точечных мутантов K137E, K141E и K137,141E и исследованы их физико-химические свойства и шаперонная активность. Спектроскопия кругового дихроизма показывает, что Hsp22 обладает малоупорядоченной II структурой. Мутация K137E слабо влияет, а мутации K141E и K137,141E приводят к уменьшению доли упорядоченной структуры Hsp22. Установлено, что Hsp22 крайне чувствителен к трипсинолизу, и мутации K141E и K137,141E, дестабилизирующие структуру Hsp22, ускоряют трипсинолиз. Данные флуоресцентной спектроскопии и тушения флуоресценции показывают, что половина остатков триптофана Hsp22 расположены на поверхности, а вторая половина находится в гидрофобном окружении и менее доступна растворителю. Мутации K141E и K137,141E приводят к уменьшению внутренней флуоресценции Hsp22. Методом химического «сшивания» с использованием диметилсуберимидата показано, что Hsp22 представлен в основном в виде мономеров или малых олигомеров. С этим согласуется то, что разведение с 0,8 до 0,2 мг/мл сопровождается изменениями III структуры белка. Вероятность образования димеров (или более крупных олигомеров) возрастает в ряду K137,141E < K141E = белок дикого типа < K137E. Точечные мутации K137E, K141E и K137,141E мало влияли на шаперонную активность Hsp22 при использовании инсулина в качестве модельного субстрата, однако заметно уменьшали шаперонную активность Hsp22 при использовании роданазы и дрожжевой алкогольдегидрогеназы в качестве субстратов. Сделан вывод, что точечные мутации K141E и

K137,141E существенно влияют на структуру Hsp22 и на его шаперонную активность, что может быть одной из причин развития различных заболеваний.

Некоторые аспекты нерепликативной РНК-рекомбинации у полиовируса

Казаров Александр Александрович

младший научный сотрудник

Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова,
Московская обл., Россия

E-mail: skazarov@mail.ru

Рекомбинация играет важную роль в эволюции РНК-вирусов. Согласно общепринятой модели, рекомбинантная молекула РНК образуется в процессе репликации вирусного генома, как результат смены матрицы РНК-полимеразой. Тем не менее, были получены неоспоримые свидетельства существования, по крайней мере, у полиовируса альтернативного механизма - нерепликативной рекомбинации, которая происходит путём разрыва и лигирования ранее синтезированных молекул вирусной РНК. Предполагается, что в этом процессе участвуют клеточные РНК-метаболизирующие ферменты, однако его молекулярный механизм не установлен. Была поставлена следующая задача: изучить закономерности распределения сайтов кроссовера при нерепликативной рекомбинации в условиях высокого уровня селективного давления. Для этого геном полиовируса был разделён на два неинфекционных фрагмента, которые имели область взаимного перекрытия длиной 177 нт. в участке, кодирующем РНК-полимеразу. Фрагменты содержали набор маркеров, позволяющих картировать расположение кроссоверного сайта в рекомбинантном геноме с точностью до 1-12 нт. При ко-трансфекции клеток фрагментами были получены рекомбинантные вирусы, геномы которых не содержали вставок или делеций в сайтах кроссовера. Анализ распределения мест перекрёста показал следующее: участки на концах исследуемой области, общей длиной 50 нт., не содержат сайтов кроссовера; во внутренней части исследуемой области сайты кроссовера распределены равномерно, за исключением двух «горячих» участков. Наблюдаемую картину можно трактовать следующим образом: процесс рекомбинации является стохастическим, однако в определённых участках генома вероятность рекомбинационного события повышена, например, по причине высокой чувствительности к нуклеолитическому

расщеплению. Концевые участки, по-видимому, быстро деградирует под действием клеточных экзорибонуклеаз, поэтому они не участвуют в рекомбинации и не содержат сайтов кроссовера.

Примечательно, что в двух вирусных клонах из коллекции было выявлено два различных рекомбинантных генома, отличающихся местоположением сайтов кроссовера. Можно предложить, по крайней мере, два объяснения этого явления. Если оба рекомбинантных генома возникли независимо друг от друга, то это, возможно, означает, что в культуре имеются клетки, условия в которых более благоприятны для нерепликативной рекомбинации, например, за счёт высокой активности РНК-метаболизирующих ферментов. С другой стороны, выделенные геномы могут происходить от одного первичного рекомбинанта, содержащего дубликацию в сайте кроссовера, не препятствующую сохранению его жизнеспособности. В процессе репликации вирусной РНК эта дубликация могла быть элиминирована, по крайней мере, двумя путями, в результате чего и возникли два различных генома.

Особенности структуры населения наземных беспозвоночных в культурах сосны.

Камаев И.О.

студент

Марийский государственный университет, Йошкар-Ола

Исследования проводили в Пригородном лесхозе Республики Марий Эл в 2004 г. Для изучения герпетобионтов были выбраны 3 участка, расположенные на месте леса, сгоревшего в 1972 г.: 1) сосняк лишайниково-мшистый, посадка 1974 г.; 2) сосняк лишайниково-мшистый, посадка 1974 г. с изреженным древостоем после селективной вырубki и 3) сосняк брусничник, посадка 1976 г.

Максимальная среднесезонная уловистость почвенных ловушек Барбера отмечена для сосняка брусничника. Среди населения герпетобионтов доминирующими были активные и наиболее подвижные формы. Фоновыми группами являлись паукообразные и насекомые (преимущественно *Coleoptera*). На всех участках многочисленными были жужелицы, долгоносики и пауки

Анализ трофической структуры герпетобионтов показал, что для всех биоценозов характерно высокое обилие хищных беспозвоночных, за счет жужелиц и пауков. Фитофаги были представлены *Curculionidae*, личинками *Lepidoptera*, *Blattoptera* и *Hemiptera*. Высокая динамическая плотность долгоносиков на всех участках обусловлена активностью

Strophosomus. Для сосняков брусничника и с изреженным древостоем наблюдается примерно одинаковое соотношение *Curculionidae*. Таким образом, в ходе исследований были выявлены особенности структуры населения герпетобионтов в культурах сосны. Отмечается также влияние лесоводственного ухода на формирование комплекса напочвенных беспозвоночных в посадках. Автор признателен к.б.н. В. А. Матвееву за помощь в подготовке работы.

Функционирование сердечно-сосудистой системы у детей и подростков г.Магадана в зависимости от индекса массы тела

Карандашева В.О.

Младший научный сотрудник

Международный научно-исследовательский центр “Арктика” ДВО
РАН, Магадан

e-mail: arktika@online.magadan.su

Целью наших исследований явилось изучение функционирования сердечно-сосудистой системы у детей и подростков Магадана в зависимости от индекса массы тела. Исследования проведены на мальчиках 11-16 лет, учащихся различных школ города. Всего было обследовано 1189 школьников, имеющих физическую нагрузку только на уроках физической культуры. В зависимости от показателя индекса массы тела (ИМТ) мальчики каждого возраста были разбиты на три группы: 1 группа – лица с ИМТ ниже $M-\delta$; 2- лица в пределах $\delta-M+\delta$ и 3 группа – лица с ИМТ больше $M+\delta$, где M - средняя величина ИМТ. Проведенные исследования показали, что с увеличением возраста мальчиков происходит закономерное снижение частоты сердечных сокращений и индекса кровообращения; увеличение артериального давления и систолического объема крови. Существенных различий по частоте сердечных сокращений между лицами 3-х групп в каждом возрасте не было выявлено. Уровень систолического артериального давления в каждой возрастной группе увеличивался по мере возрастания ИМТ. Так среди мальчиков 11-лет у лиц с ИМТ ниже среднего САД составлял $92,3 \pm 1,94$ мм.рт.ст., тогда как у лиц с ИМТ выше среднего – $103,2 \pm 4,42$ мм.рт.ст. Среди подростков 16-ти лет эти показатели составляли $112,4 \pm 2,33$ и $124,4 \pm 4,12$ мм.рт.ст. соответственно. Существенных различий по систолическому объему крови между лицами трех групп в каждом возрасте не обнаружено, а величина индекса кровообращения снижается по мере увеличения ИМТ.

Показатель двойного произведения, свидетельствующий о функциональных резервах сердечно-сосудистой системы, имеет тенденцию к повышению у лиц с индексом массы тела выше средних величин. Это связано в основном с увеличением систолического артериального давления у лиц этой группы. Аналогичная тенденция наблюдается и в отношении показателя внешней работы миокарда. Так, например, среди мальчиков 11-ти лет у лиц с ИМТ ниже среднего ВРМ составлял $3,69 \pm 0,15$ ед., тогда как у лиц выше среднего – $4,97 \pm 0,29$ ед. соответственно. Среди подростков 16-ти лет эти показатели составляли $6,19 \pm 0,13$ ед. и $6,80 \pm 0,27$ ед. соответственно. У лиц 1 группы наблюдается преобладание активности симпатического, у лиц 3 группы парасимпатического отдела вегетативной нервной системы. В каждой возрастной группе наблюдается отчетливая тенденция к понижению адаптационного потенциала системы кровообращения у лиц с повышенным показателем индекса массы тела. Таким образом, уже в предпубертатном и пубертатном периодах у мальчиков с повышенным индексом массы тела выявляется тенденция к повышению артериального давления и напряжению в функционировании сердечно-сосудистой системы.

Импорт тРНК в митохондрии как стратегия лечения синдрома MELAS

Каричева Ольга Зиевна¹, Колесникова Ольга Александровна¹, Крашенинников Игорь Александрович¹, Тарасов Иван Алексеевич²

Младший научный сотрудник

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,

²Университет Луи Пастера, Страсбург, Франция

E-mail: el_fanar@mail.ru

Мутации митохондриальной ДНК являются причиной целого ряда тяжелых заболеваний человека, поражающих, в основном, нервную и мышечную системы. Среди более 250 патогенных мутаций около 70 локализованы в генах митохондриальных тРНК (мит тРНК). Наиболее распространенными заболеваниями, обусловленными мутациями в генах мит тРНК, являются синдромы MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes) с мутацией в мит тРНК^{Лей} и MERRF (myoclonic epilepsy and ragged-red fibers) с мутацией в мит тРНК^{Лиз}. На сегодняшний день эффективных методов лечения для большинства «митохондриальных» болезней не существует.

Одной из стратегий лечения таких заболеваний может быть доставка функциональных тРНК в митохондрии больных клеток. Известно, что в ряде организмов тРНК импортируются в митохондрии. В клетках человека такого феномена обнаружено не было, однако оказалось, что дрожжевая лизиновая тРНК, импортирующаяся в митохондрии дрожжей, может проникать и в митохондрии человека, при этом все факторы, необходимые для этого, в клетках человека есть. В нашей лаборатории ранее была создана система искусственного импорта в митохондрии клеток человека лизиновой тРНК, способной функционально замещать собственную мутантную митохондриальную тРНК.

В настоящее время мы разрабатываем аналогичную генно-терапевтическую модель для синдрома MELAS. Для этого необходимо создать тРНК, способную импортироваться в митохондрии клеток человека, аминоацилироваться там лейцином и участвовать в митохондриальном биосинтезе белка, функционально замещая мутантную тРНК. В качестве основы для создания такой тРНК мы взяли дрожжевую митохондриальную лизиновую тРНК и изменили ее антикодон с лизинового UUU на лейциновый UAA. T7-транскрипт такой тРНК *in vitro* сохраняет способность импортироваться в митохондрии клеток человека и может аминоацилироваться лейцином рекомбинантной митохондриальной лейцил-тРНК-синтетазой человека, при этом эффективности аминоацилирования транскриптов мутантной дрожжевой тРНК и митохондриальной лейциновой тРНК человека сопоставимы.

Кроме того, нами была получена стабильная линия клеток человека, экспрессирующая созданную нами мутантную тРНК. С помощью RT-PCR мы показали, что такая гетерологичная тРНК импортируется в митохондрии клеток человека в культуре.

Характеристика субтилизиноподобных протеиназ *Bacillus intermedius*, секретируемых рекомбинантным штаммом *Bacillus subtilis* AJ 73

Каримова М.Р., Михайлова Е.О., Шарипова М.Р.

студент, аспирант, профессор

Казанский государственный университет, биолого-почвенный факультет, Казань, Россия

e-mail: katya_o_m@rambler.ru

Субтилизиноподобные сериновые протеиназы находят применение в промышленности, медицине и молекулярной биологии. Остается открытым вопрос понимания ряда аспектов физики и химии белковых молекул и получения картины изменений, вызванных внешними воздействиями.

Целью работы были очистка и характеристика субтилизиноподобных сериновых протеиназ *Bacillus intermedius*, секретируемых рекомбинантным штаммом *Bacillus subtilis* AJ 73. На разных стадиях роста из культуральной жидкости *B. subtilis* с помощью ионообменной хроматографии на КМ-целлюлозе и высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке MonoS в системе FPLC были выделены 2 субтилизиноподобные протеиназы, секретируемые на 28-й (ранняя протеиназа) и 48-й (поздняя протеиназа) часы роста культуры. Степень очистки белков составила 437 и 824,3, удельная активность - 28,4 и 36,54 ед/мг, а выход - 11,6 и 12,3%, соответственно. Молекулярная масса белков обеих фракций определяли с помощью метода MALDI-TOF, она составила 27 кДа. С помощью хромогенных субстратов обнаружено, что обе субтилизиноподобные протеиназы наиболее активны в отношении субстратов, специфичных именно для субтилизинов - Glp-Ala-Ala-Leu-pNa и Z-Ala-Ala-Leu-pNa. Показано, что рН-оптимум обеих субтилизиноподобных протеиназ в универсальном буфере составляет 11,0, в то же время в т-НСI буфере это значение составило - 9,5. Ферменты в универсальном буфере сохраняли стабильность в интервале рН от 7,0 до 11,5. Показано, что температурный оптимум раннего фермента *B. intermedius* приходился на 37⁰С, а позднего на 45⁰С. Ферменты сохраняли стабильность в интервале температур от 0 до 50⁰С. Дальнейшее увеличение температуры приводило к резкой потере активности фермента. Нестабильность ферментов *B. intermedius* при более высоких температурах объясняется отсутствием дисульфидных связей, которые обеспечивают стабильность многих протеиназ. Изучение влияния ионов

кальция на субтилизиноподобные протеиназы *B. intermedius* показало, что в конечной концентрации 5 мМ Ca^{2+} не оказывал существенного влияния на активность поздней протеиназы, но несколько стабилизировал раннюю протеиназу, для которой интервал стабильности увеличивался до 55-60⁰С. Результаты позволяют предположить, что разница физико-химических свойств ранней и поздней субтилизиноподобных протеиназ связана с различной конформацией ферментов.

Реакция митохондрий лимфобластных клеток на токсический стресс

Карпова Лариса Викторовна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: karpova_larisa@mail.ru

Изучение клеточных линий как модельных систем для исследований процессов клеточной гибели при применении противоопухолевой терапии в онкологической клинике давно получило широкое распространение. До сих пор остаются актуальными вопросы о внутриклеточных путях индукции апоптоза при применении противоопухолевых цитотоксинов и устойчивости к такого рода воздействиям некоторых популяций опухолевых клеток. При апоптозе в митохондриях происходит падение трансмембранного потенциала ($\Delta\psi_m$) (деполяризация). Недавние исследования говорят о том, что деполяризации мембраны предшествует временное повышение трансмембранного потенциала – гиперполяризация.

Исследовали изменение трансмембранного потенциала при действии противоопухолевых препаратов различных групп (ингибиторы топоизомеразы-II, антиметаболиты-антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиримидинов, ингибиторы рибонуклеотидфолатредуктазы, митотические яды, антибиотик блеомицин) на клетки линии Т-лимфобластного лейкоза Jurkat и их мультирезистентный клон Jurkat/A4. Регистрацию митохондриального потенциала осуществляли методом проточной цитометрии с использованием специфического липофильного катионного флуоресцентного зонда JC-1. Регистрацию апоптотически гибнущих (теряющих ДНК) клеток осуществляли по окраске ДНК фенантридиновым флуорофором (PI).

Обнаружили при 24-часовой инкубации с повышающимися концентрациями Этопозида (5; 10; 50; 100 мкМ) изменение трансмембранного потенциала митохондрий в клетках линии Jurkat . Наблюдается увеличение доли клеток в состоянии специфического апоптоза (до 45%). На клетках обеих линий после 48-часовой инкубации с противоопухолевыми препаратами (Метотрексат –100 мкМ; Цитозар – 4 мкМ и 40 мкМ; Гидроксимочевина – 1 мкМ и 10 мкМ; Винкристин – 0,1 мкМ и 2 мкМ; Блеомицин - 5 мкг/мл и 10 мкг/мл) обнаружили явление гиперполяризации митохондриальной мембраны.

Индукция органогенеза в каллусной культуре яровой мягкой пшеницы *in vitro*

Катасонова Анна Александровна

аспирантка

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

E-mail: anetteka@rambler.ru

Цель исследования – выявить типы органогенеза в каллусах, полученных из незрелых зародышей яровой мягкой пшеницы, в культуре *in vitro*.

Эксплантатами для получения каллусов послужили незрелые зародыши яровой мягкой пшеницы сорта Симбирка. Для формирования морфогенных каллусов инокулируемые незрелые зародыши должны находиться на определенной фазе развития. Для пшеницы экспериментально установлена такая оптимальная фаза – это 15-17-е сутки после опыления. Колосья срезали на 15-16 сутки после опыления. Зерновки стерилизовали 70%-м этанолом в течение 10 мин. Незрелые зародыши вычленили в стерильных условиях и переносили на питательную среду Мурасиге и Скуга (Murashige, Skoog, 1962). Обязательное условие дедифференциации растительной клетки и превращения ее в каллусную - наличие в среде кроме элементов питания двух или более гормонов, относящихся к разным группам, поэтому исходная среда была дополнена 2,0 мг/л 2,4-Д и 0,2 мг/л кинетина (Шаяхметов, 2001). Инкубацию зародышей проводили при +26⁰С в темноте. По внешнему виду полученные каллусы представляли собой компактные блестящие образования бледно-желтого цвета. Для индукции органогенеза каллусы пассировали на исходную питательную среду Мурасиге и Скуга без 2,4-Д и культивировали при +26⁰С на свету. Через 20 суток производили визуальную количественную оценку органов, по которым определяли тип органогенеза.

Установлено, что в 30,3% случаев морфологически наблюдалось образование побегов, в 2,2% - образование корней, в 43,5% - побегов и корней одновременно. В 24,0% случаев образования корней или побегов не наблюдалось.

Таким образом, в каллусах, полученных из незрелых зародышей пшеницы, введенных в культуру на одной стадии развития и культивируемых на одной питательной среде, индуцировались различные типы органогенеза, либо органогенез не наблюдался. Одна из возможных причин этого явления - неоднородность каллуса, который состоит из различных групп клеток, реализующих морфогенетические потенциалы различными путями. Важную роль играют связи между группами клеток в каллусе, что в свою очередь обусловлено их формой, размером, соотношением различных групп клеток и т.д. (Батыгина, 1987). Вероятно, имеет место зависимость эффекта, вызываемого гормонами, от физиологической характеристики клеток-мишеней.

Возможная роль электрических синапсов в синхронизации ритмической активности соматической коры крыс

Кириченко Евгения Юрьевна

аспирант

НИИ Нейрокибернетики им. А. Б. Когана РГУ, Ростов-на-Дону, Россия

e-mail: lamimosa@inbox.ru

Биоэлектрическая активность головного мозга характеризуется чрезвычайным разнообразием ритмических феноменов различного частотного диапазона (тета-ритм, альфа-ритм, гамма-ритм и др.), однако, вопрос о механизмах ритмичных осцилляций далек от своего решения. В последнее время появились немногочисленные работы, в которых показано возможное участие электрических синапсов в синхронизации ритмической активности. Ранее электрические синапсы были найдены лишь у беспозвоночных, и им не приписывалось участие в биоэлектрических процессах у позвоночных животных. Целью настоящего исследования являлось ультраструктурное исследование химических и электрических синапсов в баррельной коре крысы и их роли в синхронизации пейсмекерной веретенообразной активности корковых нейронов внутри отдельных колонок и между ними.

В наших ультраструктурных исследованиях были выявлены электрические синапсы на уровне бочонков соматической коры крысы, аналогичные описанным в литературе в других областях мозга. Предположительно, нами наблюдались дендро-дендритные

электрические синапсы, кроме этого, встречались электрические контакты между отростками нервных клеток и клеток глии (астроцитами и олигодендроцитами). Наряду с этим, нами было выявлено закономерное расположение химических синапсов вблизи электрических. При предварительном визуальном исследовании четвертого слоя в одной электронномикроскопической клетке, размер которой составляет примерно 200:200 нм, было выявлено небольшое количество электрических контактов, но это количество является достаточно существенным по сравнению с их числом в других слоях коры головного мозга крысы. Таким образом, мы полагаем, что относительно частое выявление электрических синапсов в четвертом слое коры головного мозга крысы, где особенно хорошо выражена веретенообразная активность, может свидетельствовать об их участии в синхронизации подпороговых пейсмекерных потенциалов, когда спайковой ритмической активности нейронов еще не наблюдается.

Протеолитическая активность светящихся бактерий

Кирпиченко Татьяна Владимировна

Студентка

Красноярский государственный университет, биологический факультет,

Красноярск, Россия

E-mail: Ymnitsa2004@mail.ru

Интенсивные исследования симбиоза светящихся бактерий с морскими животными не привели пока к раскрытию механизмов его формирования и функционирования. Синтез протеаз микроорганизмами может быть одним из факторов, способствующих колонизации тканей животных. Исследование симбиоза кальмара *Euprymna scolopes* со светящимися бактериями *Vibrio fischeri* показало, что целомическая жидкость светящегося органа содержала аминокислоту глицин, источником которой был организм хозяина. При определении углеводной специфичности светящихся бактерий нами было обнаружено, что N-ацетил-D-галактозамин ингибировал реакцию гемагглютинации эритроцитов клетками симбиотических культур светящихся бактерий *Photobacterium phosphoreum* вплоть до частичного или полного гемолиза. Наличие аминокислоты в целомической жидкости может быть обусловлено синтезом протеаз штаммами-симбионтами или индукцией их синтеза при взаимодействии бактериального лектина, специфичного к N-ацетил-D-галактозамину, с рецепторами световых органов. С целью выявления возможной роли

протеолитических ферментов в процессе формирования симбиоза светящихся бактерий с морскими животными нами была определена протеолитическая активность светящихся бактерий разных таксономических и экологических групп на средах без и с внесением N-ацетил-D-галактозамина.

В качестве объектов исследования были использованы светящиеся и темновые спонтанные мутанты (в том числе альдегидзависимые) симбиотических культур вида *P. phosphoreum*, а также свободноживущие *P. phosphoreum*, *Photobacterium leiognathi*, *Vibrio harveyi* и штаммы-комменсалы *V. fischeri*, поддерживаемые в Коллекции культур светящихся бактерий Института биофизики СО РАН. С целью исследования индукции синтеза протеаз симбиотическими светящимися бактериями *P. phosphoreum* в среду для культивирования добавляли N-ацетил-D-галактозамин в концентрации 0,1 %.

Результаты проведенных экспериментов показали наличие протеолитической активности у всех исследованных культур. Протеолитическая активность **светящихся** симбиотических бактерий *P. phosphoreum* составила $0,011 \pm 0,005$. У **несветящихся** мутантных вариантов симбиотических *P. phosphoreum*, в том числе альдегидзависимых, активность протеолитических ферментов практически не отличалась от светящихся и составила $0,012 \pm 0,0004$. Индукции синтеза протеолитических ферментов у культур *P. phosphoreum* при добавлении в среду N-ацетил-D-галактозамина не происходило. Исследованные водные культуры *P. phosphoreum* имели одинаковую с симбиотическими штаммами этого вида протеолитическую активность - $0,010 \pm 0,005$. Активность протеаз свободноживущих бактерий вида *P. leiognathi* по сравнению с водными штаммами *P. phosphoreum* была примерно в четыре раза выше и составила $0,042 \pm 0,004$. Еще более высокие значения протеолитической активности наблюдались у штаммов-комменсалов *V. fischeri* - $0,052 \pm 0,012$ и свободноживущих культур *V. harveyi* - $0,073 \pm 0,002$.

Таким образом, протеолитическая активность симбиотических и свободноживущих культур вида *P. phosphoreum* одинаковая и не индуцируется N-ацетил-D-галактозамином, ее уровень значительно ниже, чем у светящихся бактерий других исследованных видов, следовательно, протеазы не являются факторами колонизации морских животных светящимися бактериями *P. phosphoreum*.

Половозрастные различия линьки глухаря *Tetrao urogallus L.* 1758
Енисейского района Красноярского края
Кизилова Наталья Александровна, Савченко Игорь Александрович
аспирант
Красноярский государственный университет, Красноярск, Россия
E-mail: finehunter2005@mail.ru

Линька – один из основных процессов периодических явлений в жизненном цикле птиц. Ему уделялось внимание во многих работах (Кирпичев, 1972 и др.), но все они в основном проводились в условиях содержания птиц в неволе. Линька у диких птиц, и, в частности, у представителей сем. Tetraonidae, изучена далеко не полностью.

Исследования проведены в осенний период 2003 года в Енисейском районе Красноярского края. Общее количество птиц составило 40 экземпляров. Оценка линьки проводилась путем определения стадий смены перьев различных частей тела и развития каждой отдельной стадии (Виноградова, Дольник, Ефремов, 1976). Достоверность различий установлена с использованием графического способа и критерия Фишера (Лакин, 1980).

Начальный этап линьки – смена маховых и рулевых перьев. При этом основные половозрастные различия выражаются в последовательности линьки маховых перьев. Наиболее интенсивно и в более короткие сроки смена оперения крыла проходила как у молодых, так и у взрослых самок (n=18). У них большее количество перьев (90,01¹-91,12²%) находилось в 5 стадии, чем у самцов (n=7) – 73,36¹-80,02²%. Помимо этого у основной массы самцов наблюдалась смена как первостепенных, так и второстепенных и третьестепенных маховых. Заключительный этап линьки этих перьев заключается в смене первых первостепенных маховых (Кирпичев, 1972). У самок же в рассматриваемый период в основном наблюдается смена именно этих перьев.

Линька оперения отделов тела. Со второй декады сентября по вторую декаду октября у глухарей всех половозрастных групп наблюдалось одновременное присутствие каждой стадии линьки (с 1 по 5 ст.), при этом основные различия выражались в доле линяющих перьев 5-й стадии.

Так в сентябре доля этой стадии у взрослых самцов (n=7) составляла 65,22% общей поверхности тела, у молодых (n=3) – 60,44%. Доля 5-й стадии у взрослых самок (n=6) составляла 77,05%. У единственной молодой самки, добытой во второй декаде сентября, доля этой стадии составляла 65,91%.

В октябре у взрослых самцов (n=5) наблюдалось увеличение доли 5-й стадии до 85,49%, у молодых самцов (n=7) до 82,06%.

Взрослые самки (n=8), как и в сентябре имели более высокие показатели (91,56%), при этом у одной особи отмечено полное завершение линьки всех частей тела. Доля 5-й стадии у молодых самок (n=3) также выше, чем у самцов (87,35%).

Такая закономерность, вероятно, в первую очередь связана со значительно меньшими размерами самок по сравнению с самцами, так как имеется определенная зависимость скорости роста перьев от их размеров: чем больше длина пера, тем меньше относительный ежедневный прирост. (Ларионов, Позигун, 1935).

Примечание: 1-молодые особи (juv-sad), 2 – взрослые особи (ad)

**Взаимодействие интеграз ВИЧ и ПВЧ с концевыми повторами
своих ДНК субстратов**

Княжанская Екатерина Сергеевна

Студент

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: knyajka@mail.ru

Интегразы ретровирусов осуществляют интеграцию вирусного генома в геном клетки-хозяина. Так как интегразы ВИЧ сильно агрегируют в водных растворах, до сих пор не осуществлен рентгеноструктурный анализ этого фермента в комплексе с ДНК субстратом (U5 фрагменты вирусных LTR), и неизвестна точная структура сайта связывания фермента, а также количество субъединиц интегразы, участвующих в процессе интеграции. Представитель р. Spumavirus, с. Retroviridae, Пенообразующий вирус человека (ПВЧ) также обладает ферментом интегразой, по своей структуре весьма сходной с интегразой ВИЧ. Этот белок гораздо меньше агрегирует в водных растворах, нежели интегразы ВИЧ, что делает возможным его кристаллизацию в комплексе с субстратом. Мы решили использовать этот фермент в качестве модели, а данные, полученные при работе с ним, впоследствии применить к интегразе ВИЧ.

При ковалентном замыкании концевых последовательностей ДНК ВИЧ и ПВЧ образуются палиндромные структуры, которые интегразы этих вирусов способны расщеплять с образованием липких концов. Продукты, получающиеся в ходе этой реакции, могут являться промежуточными в процессе интеграции(*).

Для изучения структуры сайта связывания мы применяли метод аффинной модификации. Мы использовали несколько аналогов концевой фрагмента U5 последовательности, каждый из которых содержал в разных нуклеотидах альдегидную модификацию, введенную в 2'-положение рибозы. Альдегидная группа способна реагировать с остатками лизина с образованием ковалентного комплекса между белком и олигонуклеотидом. Мы определили положения модификаций, для которых выход ковалентного комплекса наибольший, и далее на основе этих данных были синтезированы палиндромные модифицированные олигонуклеотиды. Для этих субстратов было определено исследование по определению количества субъединиц интегразы, ковалентно связывающихся в районе палиндрома.

* *A novel function for spumaretrovirus integrase: an early requirement for integrase-mediated cleavage of 2LTR circles. Olivier Delelis et al., Retrovirology 2005*

Работа поддержана грантами РФФИ 05-04-48743_a, РФФИ-НЦНИ 04-04-22000_a

Молекулярные механизмы трансдукции сигнала при фототаксисе

Chlamydomonas

Ковалева Дарья Игоревна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: dashunchik1985@mail.ru

Одноклеточная зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* обладает способностью к фототаксису. Работами группы О.А. Синещекова и сотрудников ранее было установлено, что фотовозбуждение клетки вызывает каскад быстрых электрических явлений в плазматической мембране, который играет ключевую роль в цепи трансдукции сигнала при фототаксисе, и разработаны методы экстраклеточной регистрации фотоиндуцированных трансмембранных токов. Анализ наиболее ранних детектируемых компонентов этого каскада у клеток *C. reinhardtii* дикого типа показал наличие двух фоторецепторных токов, различающихся по кинетике и уровню светового насыщения, и выявил родопсиновую природу рецепторов фототаксиса. В библиотеке нуклеотидных последовательностей кДНК *C. reinhardtii* были обнаружены две последовательности, гомологичные опсинам архей, соответствующие белки были названы CSRA и CSRB (*Chlamydomonas*

Sensory Rhodopsin A и B, соответственно). Функциональная роль этих белков в клетке была установлена путем создания генетических трансформантов *C. reinhardtii* с пониженным содержанием каждого из них и сравнительным исследованием фоторецепторных токов и фоторегуляторных двигательных реакций этих трансформантов. Было показано, что CSRA преимущественно поглощает зеленый свет и генерирует быстрый фоторецепторный ток с высоким световым насыщением, а CSRB поглощает синий свет и генерирует медленный (задержанный) ток с низким световым насыщением. Благодаря этому различию свойств генерируемых ими токов, CSRB служит основным рецептором фототаксиса, а CSRA – фотофобной реакции клетки, возникающей при резком перепаде освещенности. При этом цепи трансдукции, запускаемые фотовозбуждением каждого из двух родопсинов, существенно перекрываются на уровне деполяризации мембраны. Свойства фоторецепторных токов, регистрируемых в ответ на фотовозбуждение CSRA и CSRB в клетках *C. reinhardtii*, отличаются от таковых, наблюдаемых при гетерологической экспрессии соответствующих генов в ооцитах шпорцевой лягушки и нейронах различных животных. Эти отличия позволяют предполагать наличие в клетках *C. reinhardtii* специфических Ca^{2+} каналов, активируемых фотовозбуждением рецепторных родопсинов, и энзиматического каскада усиления сигнала, ассоциированного с CSRB. Для выяснения природы этих элементов цепи трансдукции сигнала при фототаксисе и их идентификации на молекулярном уровне нами были предприняты: 1) исследование свойств двух фоторецепторных токов в клетках *C. reinhardtii* дикого типа и генетических трансформантов *C. reinhardtii* с пониженным содержанием каждого из рецепторных родопсинов; 2) поиск вероятных кандидатов на роль Ca^{2+} каналов фототаксиса в базах данных генетической информации *C. reinhardtii*.

Особенности органогенеза сахарной свеклы в культуре in vitro.

Коломиец Юлия Васильевна

ассистент

Кляченко Оксана Леонидовна

доцент, к.б.н.

Национальный аграрный университет, Киев, Украина

e-mail: julyja@zeos.net

Целью нашей работы было изучение особенностей каллюсогенеза и органогенеза in vitro различных генотипов сахарной свеклы в зависимости от регуляторов роста.

Объектами исследований были сорта сахарной свеклы Ялтушковская односемянная 64, Белоцерковская односемянная 45, диплоидные гибриды Уладово-Верхняцкий МС 37, Украинский МС 70 и триплоидные гибриды Белоцерковский МС 57, Александрия. Для выращивания каллюсной культуры сахарной свеклы использовали среду Murasige & Scoog (MS) с различным содержанием гормонов: MS1 – 0,4 мг/л 6-БАП и 2,0 мг/л НУК; MS2 – 0,02 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л НУК. Результаты исследований показали, что наилучшее формирование каллюса наблюдалось на среде MS1, при этом прирост каллюсной массы в среднем составлял для сортов Ялтушковская односемянная 64 – $1,12 \pm 0,13$, Белоцерковская односемянная 45 – $1,56 \pm 0,24$, для диплоидных гибридов Уладово-Верхняцкий МС 37 – $1,21 \pm 0,26$, Украинский МС 70 – $0,88 \pm 0,15$ и для триплоидных гибридов Белоцерковский МС 57 – $0,88 \pm 0,38$, Александрия – $0,54 \pm 0,09$.

Одной из важных и трудных проблем современной биотехнологии является регенерация целых растений из изолированных клеток, которым свойственно тотипотентность. У всех генотипов наилучшее формирование микророзеток сахарной свеклы из морфогенного каллюса наблюдалось на среде MS с невысоким содержанием 6-БАП (0,05 мг/л), в присутствии ГК – 2,5 мг/л, ИМК – 2,0 мг/л (табл. 1).

Таблица 1
Морфогенез и регенерация проростков в каллюсной культуре
сортов и гибридов сахарной свеклы

Сорта, гибриды	Количество индуцированных каллюсов, шт	Морфогенные каллюсы, %	Частота регенерации, %
Белоцерковская односемянная 45	85	55±0,69	70,6±2,06
Ялтушковская односемянная 64	80	55±0,96	75,0±0,77
Украинский МС 70	90	51±0,82	34,4±1,09
Уладово-Верхняцкий МС 37	110	52±0,97	29,1±1,73
Белоцерковский МС 57	100	52±0,87	36,0±2,06
Александрия	92	52±0,69	40,2±1,73

Частота формирования морфогенного каллюса на данной среде у перечисленных генотипов достигала 51 – 55%. Наибольшей способностью к регенерации характеризовались каллюсные линии сортов Ялтушковская односемянная 64, Белоцерковская односемянная 45, несколько меньшей – диплоидных гибридов Уладово-Верхняцкий МС 37, Украинский МС 70.

Оценка адаптивных возможностей учащихся гимназии и школы-интерната по показателям variability сердечного ритма

Комарова Ольга Александровна

аспирант

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

E-mail: oliffa@mail.ru

Целью исследования стало изучение особенностей регуляции сердечного ритма у подростков обучающихся в условиях гимназии и школы-интерната с полным режимом дня.

В исследовании приняли участие 56 учащихся гимназии с углубленным изучением предметов. И 54 воспитанника кадетской школы-интерната милиции с полным режимом дня, который составлен с учетом физиологических потребностей подростка. Возраст всех обследуемых – 14-16 лет. Для изучения variability сердечного ритма и функционального состояния организма использовался автоматизированный программно-технический комплекс ORTO. Запись кардиоритмограммы проводилась в утренние часы.

У воспитанников кадетской школы-интерната индекс напряжения (ИН) регуляторных систем в покое составляет достоверно меньшую величину, чем у учащихся гимназии. Подростки, проживающие в условиях с полным режимом дня характеризуются умеренной активацией автономного, внутрисистемного контуров регуляции сердечного ритма ($AMo=32,3 \pm 2,1$) и активным приростом ИН в активной ортостатической пробе по отношению к клиностазу ($ИН1 = 91,0 \pm 20,0$ и $ИН2 = 251,0 \pm 36,4$). Такой вариант регуляции сердечного ритма свидетельствует о выраженном парасимпатическом воздействии на фоне достаточно высокой активности симпатической нервной системы и является оптимальным для организма, так как он способствует повышению адаптивных возможностей.

У учащихся гимназистов отмечается более высокий ИН в покое по сравнению с кадетами. Наблюдается меньшая степень активности автономного и внутрисистемного контуров регуляции, выявляется большая степень центрального управления кардиоритмов ($AMo = 39,9 \pm 2,5$). Это свидетельствует об общем снижении уровня активации сердечно-сосудистой системы и отражает утомление организма в результате учебной деятельности.

При изучении типа регуляции сердечного ритма было выявлено, что число лиц с ваготонией значительно выше среди воспитанников кадетской школы-интерната (65%) по сравнению с подростками, обучающимися в гимназии (46%). А число подростков с преобладанием симпатического типа регуляции, напротив, больше среди гимназистов чем среди кадет (29% и 17% соответственно). Это указывает на более успешную адаптацию к учебной деятельности кадет школы-интерната.

Таким образом, проживание подростков в условиях с полным режимом дня, включающим регулярное 5-ти разовое питание, оптимальный двигательный режим и с соблюдением режимов обучения и отдыха благоприятно сказываются на приспособительных реакциях к процессу обучения.

**Клонирование и локализация фрагментов генома гороха посевного,
сходных с генами FAS1 и FAS2 *Arabidopsis thaliana***

Коновалов Федор Андреевич¹, Вячеславова Алиса Олеговна²

¹аспирант, ²студентка

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

fedorkonovalev@yandex.ru

Одной из важнейших задач современной генетики растений является выявление генов, определяющих хозяйственно важные признаки и имеющих потенциал для использования в биоинженерии. Цель нашей работы состояла в идентификации, секвенировании и локализации участков генома гороха посевного (*Pisum sativum* L.), сходных с генами FAS1 и FAS2 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyhn. Данные гены регулируют развитие апикальной меристемы; мутации по данным генам приводят к фасциации – разрастанию стебля в толщину, а также к возможному увеличению числа органов в узлах и изменению расположения соцветий. В случае культурных форм гороха посевного такой признак может служить преимуществом, обеспечивая одновременное созревание бобов и их концентрацию в верхней части растения.

ПЦР-амплификация геномной ДНК гороха посевного, проведенная с использованием вырожденных праймеров, позволила получить ряд фрагментов нужной длины (для FAS1 – около 1000 п.о., для FAS2 – 350 и 3500 п.о.). Данные фрагменты были клонированы в векторе pTZ57R/T и секвенированы. Анализ выявленных последовательностей позволил выявить отсутствие стоп-кодонов в кодирующих участках фрагментов и наличие в их составе консервативных областей.

В ходе генетического анализа популяции F2 гороха посевного от скрещивания (Chi115 x WL1238), фрагмент, сходный с FAS1 *Arabidopsis thaliana*, был локализован в V группе сцепления между локусами Gr и Aру и сцеплен с рядом морфологических и молекулярных (Cleaved Amplified Polymorphic DNA) маркеров. В настоящее время идет поиск межлинейного полиморфизма по наличию сайтов рестрикции во фрагменте, сходном с геном FAS2.

Работа выполнена при частичной поддержке программы ведущих научных школ (НШ-1731, 2005).

Морфологические особенности рода *Aulacofusus* Dall (Gastropoda: Buccinidae) на примере представителей из дальневосточных морей России

Косьян А.Р.

аспирантка

Институт проблем экологии и эволюции им А. Н. Северцова РАН,
Москва

E-mail: kosalisa@rambler.ru

Большинство брюхоногих моллюсков, обитающих в морях России, относится к семейству Buccinidae – эволюционно успешной, многочисленной и разнообразной группе морских хищных гастропод с широким спектром питания и экологии. Несмотря на то, что многие виды имеют существенное промысловое значение, подробно изучены лишь несколько родов. Вследствие недостаточного объема данных, определение большинства видов букцинид все еще очень проблематично и требует дополнительных сведений по анатомии и строению радулы.

Целью проведенного исследования являлось уточнение диагноза рода *Aulacofusus* на основе впервые полученных данных по анатомии представителей пяти видов из нашей фауны, отобранных из коллекций Зоологического музея МГУ, Зоологического института и Института океанологии РАН.

В результате установлено, что изученные виды – *A. brevicauda* (типовой), *A. herendeeni*, *A. ombronius* и *A. periscelidus*, достаточно сильно отличаясь по раковине, обладают рядом характерных общих родовых признаков. Основываясь на изучении морфологических признаков, следует исключить из состава рода *Aulacofusus* *A. roseus*. Этот вид имеет радулу иного строения, прямой короткий хобот, небольшой желудок со слабо выраженной задней смешивающей областью и толстые слюнные протоки с вздутиями – признаки, побуждающие рассматривать его в составе рода *Retifusus*.

**О некоторых изменениях в орнитофауне лесов Ставропольской
возвышенности**

Костенко Александр Вячеславович

магистр 1-го года обучения

Ставропольский государственный университет, Ставрополь, Россия

alexkosten@yandex.ru

Ставропольская возвышенность сравнительно хорошо изучена в орнитологическом отношении. Однако, большая часть исследований была посвящена отдельным таксономическим группам птиц, либо относилась к локальным участкам лесов. Наиболее подробные исследования структуры орнитофауны лесов были проведены в 1960-70-х гг. Материалы для настоящей работы собраны в 2003-2005 гг. Исследованиями были охвачены наиболее значительные по площади леса, расположенные на Ставропольских высотах и горе Стрижамент. Определение структуры летней орнитофауны проводилось с помощью методики Кузякина. Определение основных тенденций изменения орнитофауны и популяционных трендов проводилось на основе сравнения оригинальных данных с данными исследований 1960-70-х гг. В список гнездящихся видов нами внесены 38 видов птиц, в том числе 2 вида – на основе данных литературы и устных сообщений орнитологов. К числу многочисленных (>10 пар/км²) отнесены теньковка, зяблик, большая синица, черный дрозд, крапивник, большой пестрый дятел, лазоревка, обыкновенная пищуха (в порядке убывания плотности). Суммарная плотность населения составила 235 пар/км².

В последние 30 лет в структуре орнитофауны ставропольских лесов произошли заметные изменения. Так, резко упала численность птиц, обитающих в разреженных участках леса и на границах леса с открытыми пространствами. Особенно заметно это на примере черноголовой славки, лесного конька, обыкновенной горлицы и других видов. Плотность населения черноголовой славки с 1960-х гг. сократилась с 73 до 8 пар/км², лесного конька – с 23 до 5 пар/км². Одновременно произошло увеличение численности многих видов птиц неморальных лесов: теньковки, черного дрозда, крапивника, большого пестрого дятла и др. Так, теньковка увеличила плотность в 3,5 раза (с 9 до 30 пар/км²), опередив при этом все остальные виды птиц. Показательно также резкое увеличение численности большого пестрого дятла (в 10 раз, плотность составила 19,8 пар/км²). Произошли заметные изменения в соотношении различных экологических группировок птиц по сравнению с данными 1960-70-х гг. Это выразилось в основном в

увеличении числа видов-дуплогнездников (с 5 до 10) и уменьшении представителей наземногнездящихся и кустарниковых видов. За счет постепенно расселяющихся в северном направлении дуплогнездников (зеленый и малый пестрый дятлы, московка, обыкновенная пищуха), а также некоторых других видов птиц (черный аист, пеночка-весничка), увеличилось число гнездящихся видов птиц.

Идентификация видов-двойников у инфузорий *Stylonychia mytilus* и *Stylonychia lemnae* (Инфузории) методом RAPD

Коцинян Армен Размирович

студент

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

E-mail: cotsinian@rambler.ru

Идентификация видов-двойников по морфологическим признакам часто сильно затруднена или вообще невозможна, особенно для одноклеточных эукариот. Наличие групп видов-двойников характерно и для инфузорий. Идентификация видов-двойников у инфузорий традиционно осуществляется с помощью конъюгации и изоферментного анализа, однако эти способы и не всегда гарантируют получение однозначного результата. В последние годы для определения видовой принадлежности разных организмов все чаще используют метод RAPD (random amplified polymorphic DNA, ПЦР с часто и случайно встречающимися в геноме олигонуклеотидами в качестве праймеров). Результатом подобной неспецифичной ПЦР оказывается синтез некоторого количества низкомолекулярных последовательностей; при удачном выборе праймера эти последовательности образуют уникальный для разных видов паттерн при разделении обычным электрофорезом. Этот метод применяют и для определения видов у инфузорий [1, 2].

Целью работы являлся подбор условий RAPD для идентификации инфузорий, относящихся к двум видам-двойникам *Stylonychia mytilus* и *S. lemnae*. Эти виды часто сосуществуют в пресноводных водоемах всего земного шара; *Stylonychia* широко используется в лабораторных исследованиях, поэтому важен вопрос быстрого достоверного определения видовой принадлежности этих инфузорий. Для анализа брали по два клона с заведомо известной принадлежностью к видам *S. mytilus* и *S. lemnae*. RAPD ставили с использованием 10-20 нг ДНК в качестве матрицы. Были подобраны два десятинуклеотидных праймера, которые позволили обнаружить достоверные различия между *S. mytilus*

и *S. lemnae*. Удавалось синтезировать в ПЦР 15-17 продуктов, а A-16 – 12-13 продуктов. Показано, что для каждого вида в ПЦР с каждым из праймеров синтезируется несколько (3-5) воспроизводимых видоспецифичных продуктов, наличие которых дает возможность для быстрого определения видовой принадлежности клонов *Stylonychia*, выделенных из природных популяций.

Влияние депривации сна на структуру ночного сна

Кочетова Евгения Евгеньевна

аспирант

Тамбовский госуниверситет им. Г.П. Державин, Тамбов, Россия

E-mail: evgen.koch@mail.ru

Непрерывность некоторых процессов современного производства требует сменной и ночной работы, поэтому лишение (депривация) сна (ДС) в течение 24-40 часов довольно широко представлено в производственной практике и в повседневной жизни. В качестве экспериментальной модели сменной организации труда выступает ДС. Целью данной работы являлось исследование влияния ДС на структуру ночного сна.

В исследование включено 8 юношей и 11 девушек в возрасте 18-22 ($19 \pm 1,4$) лет. Обследуемым проводилась ночная полисомнография (Auroga PSG, Grass-Telefactor, An Astro-Med, Inc. Product Group), а расшифровка записей - в соответствии с критериями Rechtschaffen A. и Kales A. (1968). Исследование проводилось в 3 этапа: адаптационная ночь, фоновая ночь и ночь после ДС (непрерывное бодрствование в течение 40 часов).

Для статистической обработки полученных данных использовался пакет программ Statistica 6.0 (Statsoft, USA) с расчетом средних значений анализируемых показателей (M), их стандартного отклонения (SD) и достоверности различий по t-критерию Стьюдента в малых выборках.

Результаты и их обсуждение. При анализе структуры сна в ответ на ДС обнаружено статистически достоверное уменьшение латенции ко сну ($21,39 \pm 2,2$ и $7,29 \pm 8,2$) ($p \leq 0,05$), уменьшение латенции ко 2 стадии NREM сна ($25,26 \pm 2,4$ и $11,68 \pm 1,1$) ($p \leq 0,05$), уменьшение латенции к REM сну ($101,26 \pm 3,8$ и $24,66 \pm 4$) ($p \leq 0,05$), а так же уменьшение продолжительности 1 стадии NREM сна ($1,81 \pm 0,9$ и $1,06 \pm 0,7$) ($p \leq 0,05$) и рост 4 стадии NREM сна ($14,38 \pm 3,3$ и $16,14 \pm 5,1$) ($p \leq 0,05$). Также возросло общее время сна ($423,38 \pm 4,3$ и $464,38 \pm 1,9$) ($p \leq 0,05$) и эффективность сна ($86,87 \pm 7,9$ и $94,4 \pm 2,4$) ($p \leq 0,05$).

При корреляционном анализе выявлены статистически значимые ($p \leq 0,05$) прямые корреляции между 1 стадией NREM сна и латенцией ко сну ($r = 0,62$) и обратные корреляции между 1 стадией NREM сна и 4 стадией NREM ($r = -0,51$), а так же между 2 стадией NREM сна и 4 стадией NREM ($r = -0,55$).

ДС уменьшила I и увеличила IV стадии NREM сна. Удлинение IV стадии NREM сна после ДС, по-видимому, имеет компенсаторный характер и связано с интенсификацией анаболических процессов, направленных на восстановление до необходимого уровня ресурсов, о чем свидетельствует интенсивный гипоталамический выброс гормона роста после ДС (Youngblood B.D. et al., 1999). Поэтому представляется наиболее вероятным, что главным механизмом, увеличивающим NREM сон после ДС, является компенсаторная активация серотонинергической системы, роль которой в инициации и поддержании NREM сна хорошо известна (Grossman G.H. et al., 2000; Adrien J., 2002).

Центральная гемодинамика в разных стадиях ночного сна

Кочетова Е.Е., Рудакова Е.А., Воронин И.М. Тамбовский

госуниверситет им. Г. Р. Державина

e-mail: eleby@rambler.ru, bjd@tsu.tmb.ru

Исследование центральной гемодинамики во время сна в норме и патологии является необходимым для понимания принципов функционирования сердечно-сосудистой системы и развития болезненных состояний. Работ, посвященных данной проблеме много, но их результаты противоречивы.

Цель настоящей работы - изучение показателей центральной гемодинамики во время ночного сна у здоровых лиц юношеского возраста.

В исследование включено 7 юношей и девушек в возрасте 18-20 лет ($19 \pm 0,8$ лет), которым проведены ночная полисомнографии (Aurora PSG, Grass-Telefactor, An Astro-Med, Inc. Product Group) и синхронное мониторирование гемодинамики (КМ-АР-01, Диамант, С.-Петербург). Расшифровка полисомнографии проводилась в соответствии с критериями Rechtschaffen A. и Kales A. (1968), а из гемодинамических показателей учитывались ударный индекс (УИ), объем крови (ОК), разовая производительность сердца (РПС) и минутная производительность сердца (МПС). Для статистической обработки

полученных данных использовался пакет программ Statistica 6,0 (Statsoft, USA).

В обследованной выборке (табл. 1) УИ в среднем за время сна был недостоверно ниже, чем в период расслабленного бодрствования. По мере наступления сна наблюдалось недостоверное его понижение с последующим увеличением, достигавшим максимума в REM сне, недостоверно превышавшем уровень бодрствования и достоверно 4 стадию NREM сна ($p < 0,05$). ОК также понижался в 1 стадию NREM сна, затем увеличивался с наибольшими значениями в 3 стадии NREM сна ($p < 0,05$) и REM сне. Остальные показатели центральной гемодинамики во время сна существенно не изменялись.

Таблица 1

Стадии сна	Показатели	
	УИ	ОК
Бодрствование	79,29±15,43	3,47±0,49
1 стадия NREM сна	76,32±13,49	3,22±0,26
2 стадия NREM сна	77,58±7,85	3,48±0,55
3 стадия NREM сна	76,60±12,51	3,51±0,59 ⁴
4 стадия NREM сна	76,77±9,80 ^R	3,44±0,59
REM сон	79,51±11,09	3,51±0,55
В среднем за ночь	77,76±9,78	3,47±0,57

4, R – достоверные различия ($p < 0,05$) по сравнению с 4-ой стадией NREM сна и REM сном

Обнаруженные изменения могут быть связаны со снижением преднагрузки за счет уменьшения венозного притока крови к правому сердцу и снижением общей сократимости миокарда, в основе чего лежит рост парасимпатических и снижение симпатических влияний на сердце.

Особенности процессов перекисного окисления липидов в лишайниках произрастающих в зоне воздействия Нерюнгринского угольного разреза республики Саха (Якутия)

Кудинова З.А., Павлова М. И.

аспирант, м.н.с., аспирант, ст. преподаватель

Институт прикладной экологии Севера АН РС (Я), г. Якутск, Россия

E-mail: ziy@list.ru

Угольный разрез Нерюнгринский действует с 1975 г., расположен в Чульманском котловане (Южная Якутия). Добыча угля ведется открытым способом. Рельеф района плоскогорный, по геоботаническому районированию относится к южной подзоне хвойных лесов Восточной Сибири.

Уровень активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) растений зависит от условий произрастания. Степень зависимости процессов ПОЛ и антиоксидантной (АО) защиты в организме низших растений в зависимости от условий произрастания малоизучена. В работе мы рассматривали влияние выбросов Нерюнгринского угольного разреза на ПОЛ и содержание низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) лишайников рода *Cladonia*. Для исследования выбраны 3 зоны по степени загрязненности снежного покрова (сильно загрязненная зона – участки 1 и 2, загрязненная зона – участки 3 и 4, «чистая» зона (контроль) – участок 5). Зоны выделены на основе аэрокосмических снимков снежного покрова окрестностей г. Нерюнгри. Степень загрязнения определялась относительным значением альбеда снежного покрова. Интенсивность ПОЛ определяли по уровню накопления малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой. Содержание НМАО определяли по окислению их хлоридом железа (III) и орто-фенантролином.

Уровень накопления МДА в талломах лишайников плавно снижается при переходе от сильнозагрязненной зоны к контрольной зоне. Содержание МДА в сильнозагрязненной зоне в 2,5 раза больше чем в лишайниках произрастающих в «чистой» зоне. Сравнительный анализ суммарного содержания НМАО в исследуемых лишайниках показал, что уровень активности НМАО существенно отличается в зависимости от условий произрастания. Наименьшее количество НМАО наблюдается в лишайниках на участках 1 и 3 (сравнимо с контролем). Максимальное содержание – на участке 4, по сравнению с контролем больше в 2,5 раза, на участке 2 - больше в 1,5 раза.

Уровень активности НМАО и интенсивность ПОЛ – взаимообусловленные процессы. В сильно загрязненной зоне отмечена наибольшая активность процесса ПОЛ, содержание НМАО варьирует в зависимости от степени удаленности от угольного разреза. В загрязненной зоне уровень ПОЛ снижается до показателей контрольной зоны, здесь же отмечено максимальное содержание НМАО.

Загадка латеральных мезентериев у брахиопод

Кузьмина Т.В.

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: kuzmina-t@yandex.ru

Исследована анатомия целомической системы брахиоподы *Hemithyris psittacea* (Gmelin 1792). Реконструкция целомической системы была выполнена на основе серийных срезов, сделанных по стандартной гистологической методике.

Целомическая система *H. psittacea* состоит из туловищного отдела, дающего ответвления в мантийные складки, полостей лофофора и периэзофагеального целома. Туловищный целом пересечен дорсо-вентральным и латеральными мезентериями. Латеральные мезентерии представлены 2 лентами: гастропариетальной и илеопариетальной. Оба мезентерия прикрепляют пищеварительный тракт к боковым стенкам тела: гастропариетальный мезентерий прикрепляет желудок, а илеопариетальный - область перехода желудка в заднюю кишку. В туловищном целоме располагаются 2 пары метанефридиев. На гастропариетальном мезентерии расположены воронки дорсальной пары метанефридиев, на илеопариетальном – воронки вентральной пары метанефридиев.

Нильсен (Nielsen, 1991) описал метамерию в организации личинки примитивной брахиоподы *Novocrania anomala* (Müller 1776). Он указал, что при метаморфозе личинка *N. anomala* складывается на брюшную сторону. Поэтому ее дорсальная и вентральная створки раковины (в традиционном понимании) на самом деле являются передней и задней, обе они образуются на дорсальной стороне личинки. Таким образом, появилась новая идея о формировании плана строения брахиопод, которые поддержали многие исследователи (Малахов, 1995; Cohen, 2003; Lüter, 2004). Если признать идею о складывании тела справедливой для замковых брахиопод, то становится понятным наличие у них двух латеральных мезентериев. Туловище предковой

формы брахиопод было разделено двумя диссепиментами на 3 сегмента. При складывании предка брахиопод на брюшную сторону, передний диссепимент превратился в гастропариетальный мезентерий, а задний – в илеопариетальный мезентерий. Сегментарная природа латеральных мезентериев подчеркивается тем, что у представителей отряда Rhynchonellida с каждым из них связана пара метанефридиев. Таким образом, брахиоподы сохраняют сегментарную организацию и во взрослом состоянии, но метамерия маскируется искривлением первичной передне-задней оси.

Электрогенные реакции в комплексе фотосистемы 2

Курашов Василий Николаевич

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: vkurashov@yandex.ru

В мембране тилакоида фотосинтезирующих организмов локализованы три белковых комплекса: фотосистема 2 (ФС 2), цитохромный комплекс b_6f и фотосистема 1. ФС 2 содержит около 20 мембранных белков, 3 периферических люминальных белка и несколько кофакторов. В комплексе ФС 2 связаны процесс переноса электрона в реакционном центре (РЦ), восстановление вторичного хинона (Q_B) на акцепторной стороне и реакция окисления воды на донорной (каталитической) стороне.

Прямой электрометрический метод позволяет определить природу, относительный вклад и кинетику реакций переноса электрона в комплексе ФС 2. С его помощью в сердцевинных комплексах ФС 2, лишенных марганца и встроенных в фосфолипидные везикулы, была исследована природа переноса электронов в присутствии экзогенного марганца и искусственных доноров электронов: N,N,N',N'-тетраметил-п-фенилдиамин (ТМФД) и 1,5-дифенилкарбозид (ДФК). В ответ на вспышку света в отсутствие доноров наблюдается быстрая генерация трансмембранной разности потенциалов ($\Delta\psi$), обусловленная разделением зарядов между редокс-активным тирозином-161 (Y_Z) и первичным хинонным акцептором (Q_A). Далее следует спад, связанный

с реакцией рекомбинации $Q_A^- Y_Z^+ \rightarrow Q_A Y_Z$. В соответствии со знаком фотоэлектрического ответа (минус внутри протеолипосом) кислородовыделяющий комплекс расположен у внешней поверхности

мембраны, что позволяет исследовать природу реакций на донорной стороне в присутствии гидрофильных агентов.

В присутствии Mn^{2+} , ТМФД и ДФК наблюдается появление дополнительной фазы фотопотенциала с микро- и миллисекундной кинетикой в ответ на одиночные вспышки света и ускорение спада фотопотенциала, что, возможно, обусловлено переносом электрона от этих веществ к окисленному Y_z внутри комплекса реакционного центра. В отличие от ДФК и ТМФД, для выявления электрогенной реакции, индуцируемой добавлением Mn^{2+} , необходимым условием является предварительное освещение образца и присутствие кальция (неорганического кофактора).

Галектины как мишень при лечении рака молочной железы

Курмышкина Ольга Вадимовна

студент

Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова,
Биологического факультета, Москва, Россия

E-mail: studioza@mail.ru

Галектины – семейство β -галактозидспецифичных лектинов, гомологичных по аминокислотной последовательности углеводсвязывающего сайта. С функциями галектинов как молекул клеточной адгезии связана их роль в процессах онкотрансформации и метастазирования. В связи с этим актуален поиск аффинных углеводных лигандов-блокаторов галектинов, которые могут быть использованы в противораковой антигалектиновой терапии.

Цель работы: идентификация и исследование специфичности галектинов, экспрессирующихся на опухолевых клетках больных раком молочной железы. В исследовании использовали полиакриламидные гликоконъюгаты Gluc-PAA-fluo. Взаимодействие клеток с Gluc-PAA-fluo анализировали методом цитофлуориметрии.

Результаты: 1) Клетки, полученные из опухолей человека, связывались с антителами к галектину-1, -2, -3 и -4. 2) Наибольшее связывание клеток, наблюдалось с асиалоGM1-PAA-fluo ($Gal\beta 1-3GalNAc\beta 1-4Gal\beta 1-4Glc\beta -PAA-fluo$), LacNAc-PAA-fluo ($Gal\beta 1-4GlcNAc-PAA-fluo$) и 6-O-Su-LacdiNAc-PAA-fluo ($GalNAc\beta 1-4(6H_2SO_3)GlcNAc-PAA-fluo$). 3) Взаимодействие клеток с асиалоGM1-PAA-fluo и 6-O-Su-LacdiNAc-PAA-fluo ингибировалось антителами к галектинам-2 и -4. 4) Взаимодействие галектинов с LacNAc возрастало при

дегалактозилировании клеток, то есть углеводсвязывающие центры галектинов были маскированы гликанами клеточной поверхности. Выводы: 1) Галектины-1, -2, -3 и -4 идентифицированы на поверхности клеток, полученных от больных раком молочной железы. 2) АсиалоGM1 и 6-O-Su-LacdiNAc являются лигандами галектинов-2 и -4. 3) АсиалоGM1 и 6-O-Su-LacdiNAc могут быть использованы для связывания галектинов, экспрессирующихся на опухолевых клетках, при лечении рака молочной железы.

Активация синтетических процессов в нейронах гиппокампа под влиянием полидана

Курская Оксана Васильевна

аспирант

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: okurskaya@yandex.ru

Известно, что при обучении и формировании памятного следа у животных различных уровней филогенетического развития в нервной системе происходят однонаправленные внутриклеточные изменения, свидетельствующие об активации белково-нуклеинового синтеза. Аналогичные изменения в мозге млекопитающих наблюдались и на фоне таких известных ноотропных препаратов, как пирацетам и пантогам. Это позволило предположить, что на фоне соединений различной природы, активирующих процессы синтеза в организме, может улучшаться память. Такой подход позволяет прогнозировать новые мнемотропные свойства у известных препаратов, в том числе и природного происхождения, обладающих синтетической активностью [Тушмалова, 1994]. Так, был спрогнозирован и подтвержден мнемотропный эффект препарата «Полидан» (дериват ДНК) при исследовании сохранения условных рефлексов у крыс. Полидан получают из молок осетровых рыб и используют в онкологической практике в качестве стимулятора гемопоза. Для определения структурно-функционального фона, на котором проявляется мнемотропный эффект полидана, исследовали влияние однократного и пятикратного внутрибрюшинного введения препарата на структуру и ультраструктуру нейронов пирамидного слоя полей гиппокампа и клеток-зерен зубчатой фасции необученных крыс. При светооптическом исследовании в нейронах всех областей гиппокампа на фоне полидана увеличивалось количество ядрышек,

свидетельствующее об активации синтеза рибосомальной РНК. При этом среди как пирамидных нейронов полей гиппокампа, так и клеток-зерен зубчатой фации было выделено несколько типов нейронов, отличающихся по интенсивности окрашивания. Число нейронов каждого из типов изменялось под действием полидана при неизменном их общем количестве. Это перераспределение типов клеток было неодинаково в разных областях гиппокампа и зависело от схемы введения препарата. Кроме того, степень увеличения числа ядрышек в нейронах каждого из типов была так же неодинаковой. Мы полагаем, что выделенные типы представляют собой различные структурно-функциональные состояния нейронов, отражающие степень интенсивности синтетических процессов в них. Зависимая от схемы введения полидана картина перераспределения типов нейронов свидетельствует о том, что в первую очередь активация синтеза происходит в нейронах полей СА3-СА4, затем в клетках-зернах зубчатой фации, а нейроны поля СА1 реагируют на воздействие препарата последними.

Результаты светооптического исследования, свидетельствующие об усилении синтетических процессов в гиппокампе на фоне полидана, подтвердились и на ультраструктурном уровне при количественном анализе состояния митохондрий и белоксинтезирующего аппарата (свободных рибосом, полисом и рибосом в одной полисоте, а также, рибосом, связанных с эндоплазматическим ретикуломом). Однако если при однократном введении препарата эти изменения носили функциональный характер, то при пятикратном применении полидана они выходили за пределы физиологической нормы.

Жизненные формы тихоокеанской миноги в р. Утхолок (западная Камчатка)

Кучерявый Александр Васильевич

Аспирант второго года кафедры ихтиологии
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет. Москва. Россия
scolopendra@bk.ru

Впервые изучена биология и таксономический статус миног Камчатки. В реке Утхолок разнообразие представлено тремя формами: *типично проходной (анадромной), проходной раносозревающей (forma praecox) и резидентной миногами.*

Типично анадромная форма. Длина самцов 260-350 (293,4) мм, самок 174-330 (278,5) мм. Масса самцов и самок составляет 31,4-87,7 (53,4) и 30,3-77,5 (46,7). Соотношение полов 1,7:1 в пользу самцов. Нерест у представителей всех форм однократный, после чего миноги погибают. *Анадромная раносозревающая форма praesox* представлена преимущественно самцами. Длина 145-220 (169,6) мм, масса – 3,2-15 (7,65) г. Соотношение полов 11,5:1 в пользу самцов. Длина *резидентных* самцов 100-160 мм, самок – 100-165 мм. Масса самцов 2,1-6,0 г, самок – 1,8-6,5 г. Соотношение полов 1,4:1.

Эти фенотипы выявлены при изучении пластических признаков, анализ главных систематических признаков – зубных формул и числа миомеров, а также совместный нерест этих форм свидетельствует об их принадлежности к одному виду – тихоокеанская минога (*Lethenteron camtschaticum*). В популяции преобладает резидентная форма (83%). Развитие миног происходит с метаморфозом. Личиночная стадия – пескоройка продолжается около четырех лет. Их длина 6,8-177 мм. Масса 0,1-6,9 г. На ранних этапах развития преобладают самки 1,6:1, на более поздних – самцы 1,6:1. Стадия завершается метаморфозом, который занимает около 6 месяцев. В зависимости от характера пищи перед метаморфозом (детрит или трупы тихоокеанских лососей) и накопленных питательных веществ у пескороек старшего возраста реализуется резидентный или анадромный тип жизненной стратегии. Ювенильные миноги анадромной группы проходят два этапа смолтификации – *ранние* и *поздние смолты*.

Длина *ранних смолтов*, готовящихся к жизни в море, составляет 131-168 мм, масса 2,9-5,0 г. Соотношение полов близко 1:1. Длина *поздних смолтов*, совершающих покатную миграцию, – 160-220 мм. Масса 4,4-10,1 г. Соотношение полов также близко 1:1. Поздние смолты переходят к паразитическому способу питания еще в реке.

Таким образом, характер питания пескороек на завершающих стадиях развития определяет будущую стратегию миноги.

Выявление стимулирующих проращение лектинов в оболочке пыльцевого зерна табака

Лазарева Е.А., Краснолобова С.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Белки оболочек пыльцевого зерна, способные диффундировать в экстраклеточное пространство при контакте с рыльцем или в условиях *in vitro*, играют существенную роль на начальном этапе проращивания

пыльцевого зерна. Однако механизмы их действия остаются практически не изученными. Вместе с тем показано стимулирующее действие экзогенных лектинов на прорастание *in vitro*, а также гиперполяризация плазматической мембраны и увеличение внутриклеточного рН вегетативной клетки в присутствии лектина конканавалина А (КонА). В настоящей работе проверяли гипотезу о присутствии в оболочках пыльцевого зерна легковымываемых лектинов, способных стимулировать прорастание пыльцевых зерен аналогично КонА.

Исследовали белки, диффундирующие в культуральную среду из оболочек пыльцевых зерен в условиях подавления везикулярного транспорта (0° С). Пыльцевые зерна предварительно отмывали диэтиловым эфиром от покровных материалов. Перешедшие в культуральную среду лектины выявляли методом гемагглютинации с использованием эритроцитов кролика; фракционирование диффузатов проводили методом аффинной хроматографии на ММП-агарозе (агароза с иммобилизованным α -метил-маннопиранозидом). Белковый спектр выделенных лектинов был охарактеризован методом электрофореза в градиентном ПААГ. Для выявления действия изучаемых белков на прорастание пыльцевых зерен использовали тест-культуры с низкой концентрацией клеток.

Диффузаты оболочки пыльцевого зерна вызывали агглютинацию эритроцитов, следовательно, в их составе присутствуют поливалентные лектины. Способность диффузатов агглютинировать эритроциты полностью подавлялась экзогенным глюкозо/маннозоспецифичным лектином КонА, что позволяет предполагать, что обнаруженные лектины являются гликопротеинами с глюкозо/маннозными углеводными детерминантами. Фракционированием диффузатов на ММП-агарозе с использованием специфической элюции ММП (0,5 М) была получена лектин-содержащая фракция. Анализ белкового спектра этой фракции показал, что при выделении достигается высокая степень очистки лектинов: обнаруживаются две полосы (около 70 кДа). Выделенные лектины, как и нефракционированные диффузаты, стимулировали прорастание пыльцевых зерен в тест-культуре, причем в обоих случаях наблюдали выраженный оптимум концентрации белка в среде, однако выделенные лектины действовали в существенно более низкой концентрации. ММП (0,3 М) блокировал стимулирующий эффект выделенных лектинов. Это свидетельствует о том, что действие лектинов оболочки на прорастание обусловлено их специфичным взаимодействием с углеводными детерминантами.

Результаты изучения миксомицетов в Тверской области
Лебедев Александр

Определение видового состава, его структуры и экологической приуроченности миксомицетов Тверской области стало целью нашей работы. В период с 2002 по 2005 гг в ходе экспедиций собран материал, включающий около 400 образцов. Часть из них находится в гербарии БИН РАН (LE), остальные в гербарии Ботанического сада Тверского Государственного университета (TVBG). Кроме того, учитывались данные, представленные в работах других авторов. На основании полученного материала проведен таксономический и эколого-фитоценотический анализ миксомицетов Тверской области.

В биоте миксомицетов Тверской области нами выявлено 94 вида. Из них 38 отмечены впервые для Тверской области, 2 вида являются редкими для России. Виды, отмеченные на территории области, относятся к 9 семействам, 6 порядков. Наибольшее обилие по числу видов имеют семейства Trichiaceae – 23 вида (26%), Physaraceae – 21 вид (23%) и Stemonitaceae – 18 видов (20%), в совокупности объединившие 69% видов. Наиболее широко в биоте представлен род *Physarum* – 12 видов (13,3%), род *Arcyria* – 10 видов (11,1%), род *Stemonitis* – 9 видов (10,0%) и род *Trichia* – 7 видов (7,8%). Другие рода по отношению к общему количеству видов получили менее 5%.

Представители класса Мухомуцетес встречаются чаще в сосновых лесах, реже в смешанных и лиственных. Нередки случаи нахождения образцов на болотах и в условиях антропогенного происхождения. Большинство отмеченных видов являются к-стратегами. Превалирует летняя фенограмма. По отношению к субстрату преобладают ксилофильные и кортикулоидные виды. Копрофильных видов не обнаружено.

Наибольшее флористическое сходство наблюдается у Тверской области с Ленинградской (0,56) и Свердловской областью (0,58). Менее сходна биота Тверской области с биотами Московской области (0,52) и территории Северо-западного Прикаспия (0,40).

**Изучение профилактического и терапевтического эффектов
лечебных грязей на состояние воспалительного процесса в суставах
конечностей у белых крыс**

Леяев В.Г.

студент 5 курса

Калмыцкий государственный университет, Россия

vorder@mail.ru

Цель исследования: Изучить влияние лечебных грязей Большого Яшалтинского озера на состояние воспалительного процесса в экспериментальной модели “Адьювантный артрит у крыс”(Newbould V.V., 1963).

Материалы и методы: Эксперименты проведены на самцах белых беспородных крыс весом 250-300 гр. Хроническое иммунное воспаление моделируют у крыс введением в подушку правой задней лапы 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда (взвесь БЦЖ 2,5 мг/мл в вазелиновом масле). Воспалительная реакция оценивается в динамике каждые 2 дня. При изучении профилактического действия исследуемые вещества вводят ежедневно, в течение 14 дней, начиная введение за 1 день до инъекции адьюванта. При оценке лечебного действия исследуемые вещества вводят ежедневно, в течение 12 дней, начиная с 14-го дня после инъекции адьюванта. Опытная группа животных получила пелоидо- и рапотерапию (лечебные грязи озера Большое Яшалтинское). Ежедневно проводилась аппликация пелоидов на “воротниковую” зону и на лапки. Контрольную группу апплицировали теплым физиологическим раствором.

Результаты: Введение адьюванта, вызывает отек лапок у крыс. Объем лапки изменяется на следующий день после введения адьюванта. Наблюдается гиперемия, отечность. В лечебной и профилактической группах проявляется тенденция к уменьшению отека в лапках, улучшению общего состояния животных. Улучшение проявляется в их большей подвижности в отличие от контрольной группы. Лапки животных в опытных группах к концу эксперимента имеют меньший отек. Также были проведен гистологический контроль суставов

Выводы: Можно полагать, что пелоидо- и рапотерапия оказывают достаточно выраженное противовоспалительное действие, стабилизируя процессы воспаления в суставах лапок крыс, в экспериментальной модели “Адьювантный артрит”. Возможно, что пелоидо- и рапотерапия корректируют иммунный статус в организме животных, но это требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Адгезия светящихся бактерий к твердым поверхностям

Лифантьева Александра Александровна

Студентка

Красноярский государственный университет, биологический факультет,

Красноярск, Россия

E-mail: Lifant@inbox.ru

В последние годы широко распространилось представление о существовании бактерий в виде колоний, гранул, биопленок, а не отдельных клеток. Любая поверхность (биотическая, абиотическая, твердая, полужидкая, а также поверхность раздела «жидкость – газ») может быть подвергнута бактериальной колонизации с образованием прикрепленного бактериального слоя. Бактерии способны заселять не только природные, но и искусственные экосистемы: камни, водоросли в водоемах, водопроводные трубы, нефтепроводы, корпуса кораблей, биомедицинские имплантаты, контактные линзы, зубную эмаль. Таким образом, колонизация бактериями различных биотических и абиотических поверхностей является не только научной, но и технической, медицинской и экономической проблемой. Адгезия к поверхностям светящихся бактерий ранее не исследовалась.

Целью данной работы было определение возможного участия адгезинов с маннозной, глюкозной, галактозной специфичностью в процессах адгезии светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* IBSO 208, *Photobacterium phosphoreum* IBSO 1856, *Vibrio harveyi* IBSO 72 и *Vibrio fischeri* IBSO 1231 к твердым поверхностям: металл, стекло, фторопласт, древесина.

Среди исследованных видов наибольшая способность к адгезии была обнаружена у представителей *P. phosphoreum*, наименьшая наблюдалась у светящихся бактерий вида *P. leiognathi* и *V. fischeri*, средние значения адгезии оказались характерными для бактерий вида *V. harveyi*. Было показано, что **галактоза** заметно ингибировала адгезию бактерий *P. phosphoreum* ко всем исследованным поверхностям и практически не влияла на прикрепление к ним клеток *P. leiognathi*, *V. harveyi* и *V. fischeri*. Это может свидетельствовать о наличии у представителей *P. phosphoreum* пилей, подобных Р пиям *E. coli*, и их участии в процессах колонизации различных поверхностей. **Глюкоза** ингибировала прикрепление ко всем поверхностям, исключая стекло, клеток бактерий *V. harveyi*, *P. phosphoreum* и *P. leiognathi* и не оказывала заметного действия на адгезивные свойства культуры *V. fischeri*. **Манноза** значительно ингибировала адгезию клеток *V. harveyi* к фторопласту; *P.*

leiognathi - к дереву и металлу; *P. phosphoreum* – к металлу и фторопласту и не влияла на адгезию к данным поверхностям клеток *V. fischeri*, что предполагает наличие маннозоспецифичных адгезинов (и соответствующих пилей) у бактерий *V. harveyi*, *P. leiognathi* *P. phosphoreum*.

По способности адсорбировать бактериальные клетки исследованные материалы расположились следующим образом (по мере убывания): дерево, металл, фторопласт, стекло. Таким образом, адгезия светящихся бактерий, как и других микроорганизмов, к твердым поверхностям определяется, в основном, химическим составом материала и зависит от вида бактерий.

Во всех рассмотренных вариантах внесение углеводов (глюкозы, маннозы, галактозы) в среды культивирования в большей или меньшей степени ингибировало адгезию клеток светящихся бактерий к твердым поверхностям (почти не оказывая действия на адгезию к стеклу). Это позволило предположить участие адгезинов с соответствующей углеводной специфичностью в процессах адгезии светящихся бактерий к биотическим и абиотическим поверхностям. По полученным нами данным глюкоза, галактоза и манноза также ингибировали образование пленок светящимися бактериями видов *V. harveyi*, *V. fischeri*, *P. phosphoreum*, *P. leiognathi* на поверхности жидкой среды.

Диагностика мешочниц (Lepidoptera, Psychidae) европейской части России по признакам полового аппарата самцов

Ловцова Ю.А.

аспирантка

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: julialov@inbox.ru

Мешочницы – небольшое семейство, насчитывающее около 400 видов в Палеарктике (более 50 видов в европейской части России). Несмотря на хорошую изученность биологии отдельных видов, по этому семейству существует очень мало определителей, в которых используются в основном признаки внешней морфологии, такие как строение антенн и ног, форма чешуек (Кожанчиков, 1956; Загуляев, 1985; Sauter, Ндттenschwiler, 1999). На коллекционных экземплярах эти признаки сложно, а зачастую и невозможно исследовать. Также они подвержены большой изменчивости. Поэтому надежное определение мешочниц в настоящее время связано с большими трудностями.

Цель настоящей работы – выявить особенности полового аппарата самцов мешочниц, которые можно использовать для диагностики родов, и составить таблицу для определения мешочниц европейской части России до рода. Было просмотрено около 1500 экз. мешочниц из европейской части России, а также изучено более 100 препаратов гениталий самцов из коллекций Зоологического музея МГУ и Зоологического института РАН.

Выявлены особенности строения полового аппарата, которые могут быть использованы для диагностики родов. Показано, что наибольшее значение для определения мешочниц имеет строение эдеагуса, наличие и форма саккуса, строение вальв, а также тегумена. Составлена определительная таблица мешочниц европейской части России до рода. В большинстве случаев признаки строения полового аппарата подтверждают современную систему мешочниц (Sauter, Hdtenschwiler, 1999), хотя иногда наблюдаются явные противоречия. Например, род *Narycia* Stephens, 1836 по строению гениталий самцов ближе к родам *Dahlica* Enderlein, 1912 и *Siederia* Meier, 1953, чем к *Diplodoma* Zeller, 1852, в то время как *Narycia* и *Diplodoma* принадлежат к трибе Naryciini, а *Dahlica* и *Siederia* к трибе Dahlicini. Также в трибе Erichnopterygini удалось выделить 3 группы родов, хорошо обособляемых друг от друга, но трудно различимые внутри.

Влияние крысиного интерферона-альфа при хроническом введении на выработку УРДИ и пищевого условного рефлекса у крыс различного возраста.

Логинова Надежда Александровна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
Москва, Россия

E-mail: nadinvnd@yandex.ru

В последнее время уделяется много внимания нейромодулирующим свойствам белков семейства интерферонов. Изученные феномены воздействия интерферона-альфа на уровень метилирования ДНК клетки позволяют предположить, согласно полученным ранее данным (Гуськова и др., 1977), что данный белок будет способен оптимизировать формирование памятного следа на моделях пищевого

условного рефлекса и условного рефлекса двустороннего избегания (УРДИ).

Цель работы состояла в анализе динамики формирования условных рефлексов на фоне хронического введения малых доз крысиного интерферона-альфа у крыс линии Wistar разного возраста.

В работе были использованы половозрелые самцы крыс линии Wistar: старые животные (возраст 22 месяца) (n=12) и молодые (возраст 3 месяца) (n=11). В течение экспериментов старым и молодым крысам из опытных групп ежедневно интраназально вводили крысиный интерферон-альфа в дозе 350МЕ, растворенный в 0,1% BSA, объемом 150 мкл. Контрольным крупам животных ежедневно вводили тот же объем 0,1% BSA. Через 10 дней введения препарата у крыс вырабатывали пищевой условный рефлекс на тон, который предъявляли в строгом временном стереотипе в течение 5-ти дней. Анализировали следующие параметры: процент положительных реакций, количество межсигнальных реакций, процент неспецифических реакций (замирание, груминг) и количество стоек. Выработку УРДИ проводили по стандартной методике. Способность животных к выработке рефлекса оценивали по разработанной в лаборатории 10-ти бальной шкале (Лосева и др., 2005). Статистическое сравнение контрольных и опытных групп крыс по средним значениям показателей проводили по непараметрическому критерию Манна-Уитни для малых выборок с использованием компьютерной программы STATISTICA.

При выработке пищевого условного рефлекса анализ всех параметров показал, что опытные группы как старых, так и молодых животных достоверно не отличались между собой и от контрольной группы молодых животных. В то же время контрольная группа старых крыс имела сниженные показатели по всем анализируемым параметрам. При анализе УРДИ было отмечено, что скорость к выработке у животных обеих опытных групп, была выше, чем у соответствующих контрольных групп.

Таким образом, при хроническом введении интерферона-альфа возрастает процент положительных реакций при формировании пищевого условного рефлекса в опытной группе старых животных, увеличивается скорость выработки УРДИ в обеих опытных группах. При этом была отмечена повышенная локомоторная активность у крыс опытных групп.

Работа поддержана грантом РГНФ № 04-06-00217а

Особенности функционирования сердечно-сосудистой системы подростков в условиях повышенных интеллектуальных нагрузок.

Луцицкая Елена Сергеевна

Аспирант

Владимирский Государственный Педагогический университет,

Владимир, Россия

E-mail: ejik81@inbox.ru

Целью проводимого исследования было выявление функциональных особенностей церебральной гемодинамики и уровня вегетативной регуляции сердечного ритма у подростков в динамике. В этот период, когда наряду с активной физиологической перестройкой организма до дефинитивных значений, ребенок находится в условиях умственных и эмоциональных перегрузок, изучение соответствующих параметров наиболее актуально. Была предпринята попытка интегрировать методы реоэнцефалографии и ритмографии.

В исследовании приняли участие 96 подростков 10-11-х классов, в начале и в конце учебного года.

Клинический смысл и назначение РЭКГ состоит в оценке мозговой фракции сердечного выброса и ее параметров. По основным показателям центральной гемодинамики (УОК, МОК, УИ, СИ) мальчики превосходят своих сверстниц, как в начале, так и в конце учебного года. Но у девочек, при повторном обследовании наблюдаются достоверные отличия по всем исследуемым параметрам, у мальчиков же достоверно возрастает лишь минутный объем. Половые различия наблюдаются и в мозговой фракции сердечного выброса. Она достоверно увеличивается к концу учебного года с 11,6 до 18,1% у девочек и с 10,5 до 16,4% у мальчиков. Скорость быстрого и медленного кровенаполнения сосудов головного мозга также возрастает и становится достоверно выше у девочек. Такие изменения можно объяснить более адекватной реакцией уже сформировавшейся ССС представительниц женского пола, в то время как у мальчиков ее становление до дефинитивных показателей еще продолжается, и разброс индивидуальных значений велик.

При анализе variability сердечного ритма в целом, к концу учебного года возрастает количество подростков с преобладанием парасимпатического звена (32% обследуемых) и центрального контура регуляции (36%), в основном за счет сокращения группы «нормотоников» (с 29% в начале года до 12% в конце). По одним данным предполагается, что повышенные учебные нагрузки ведут к более позднему созреванию симпатического компонента ВНС, по

другим – увеличение ваготонического контроля связывают с перенапряжением регуляторных систем у лиц, испытывающих повышенные нагрузки. Половые различия в показателях ВРС становятся достоверными лишь к концу учебного года, вследствие более существенного и достоверного снижения общей мощности спектра и мощности волн всех частотных диапазонов у мальчиков. Выявляется наличие корреляционных связей между показателями гемодинамики и вариабельности ритма сердца.

Трофический спектр шмелей горных территорий Кемеровской области

Лузянин С.Л.

студент

Кемеровский государственный университет

E-mail: bombuluz@ngs.ru

Для сохранения редких видов растений и поддержания видового и генетического разнообразия горных экосистем необходимым и важным условием является наличие насекомых-опылителей. Одним из наиболее активных опылителей являются шмели. Поэтому, цель работы – изучение трофического спектра шмелей горных территорий Кемеровской области, которые к настоящему времени изучены недостаточно. Исследования проводили в окр. пп. Тельбес, Балксы и Мундыбаш (сборы 2003-2005 гг., *N* – 1648 экз.).

Были изучены 15 видов шмелей, которые вступают в трофические связи с 54 видами растений (18 семейств). Большинство видов шмелей опыляют растения, принадлежащие к разным семействам, но встречаются и те, которые опыляют растения, принадлежащим к одному семейству. В данную группу входят редкие и очень редкие виды (*Bombus subbaicalensis* Vogt., *B. equestris* F., *B. sporadicus* Nyl. и *B. modestus* Evers.). В обследуемых биотопах первостепенную роль в питании шмелей играют бобовые (13 видов), а также сложноцветные (7 видов), зонтичные и губоцветные (по 6 видов). Широкие кормовые связи отмечены у шмелей – *B. lucorum* L. (34 вида), *B. agrorum* F. (42 вида), *B. schrencki* F. Mor. (33 вида) и *B. pratorum* L. (20 видов). Количество видов шмелей, посещающих растения отдельных семейств различно: бобовые и лютиковые посещают 11 видов, сложноцветные – 10, зонтичные, толстянковые и губоцветные – 9, розоцветные – 8, норичниковые и зверобойные – 5, колокольчиковые, гвоздичные,

бурачниковые и первоцветные – 3, гераниевые – 2 вида, а остальные семейства по 1 виду.

Наибольшее количество шмелей разных видов предпочитают посещать растения определенных семейств: бобовые (25,8% особей), губоцветные (25 %), толстянковые (16,7 %), зонтичные (15,1 %), сложноцветные (5,4 %), розоцветные (4,6 %), лютиковые (2,2 %) и остальные семейства менее 1 % особей.

О возможной роли эндогенных пейсмекерных каналов гиперполяризации в формировании и функционировании поляризационной доминанты.

Лысенко Лариса Валерьевна

студент

НИИ Нейрокибернетики им. А.Б. Когана Ростовского государственного университета, физический факультет, Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: Lalv@yandex.ru

Доминантные состояния являются основополагающим принципом работы мозга, однако детальные механизмы их формирования и функционирования не ясны.

Целью настоящего исследования была проверка гипотезы о возможном участии эндогенных – пейсмекерных потенциалов в функциональных сдвигах, наблюдаемых в очаге поляризационной доминанты. Искусственный очаг доминанты создавался путем вертикальной поляризации отдельной нейронной колонки баррельной коры крысы через два микроэлектрода (3–5МОм). Анод располагался в I слое, а катод – у основания колонки в VI слое, что позволяло задавать необходимый аксодендритный градиент электрического поля для дипольного заряда пирамидных нейронов V слоя коры. Регистрирующий электрод располагался в той же колонке.

Через 15 минут воздействия постоянным током 0.5-1 мкА амплитуда первичных компонентов вызванных потенциалов (ПО) увеличилась на 37 %, что свидетельствует о росте возбудимости тел пирамид V слоя, вследствие деполяризации их мембраны под действием катода, что приводит к понижению порогов импульсации нейронов. Наряду с ростом ПО, обусловленного действием синаптических факторов, мы обратили внимание на 60 % рост амплитуды вторичных вызванных веретен (ВР), которые по-видимому обусловлены не циклами возвратного торможения, а пейсмекерной активностью потенциал-зависимых каналов гиперполяризации. Гиперполяризация

апикальных дендритов, под действием анода, приводит к активации h-каналов, переводя ряд «потенциальных» пейсмекеров в «актуальные». Их преимущественная локализация в супрагранулярном слое совпадает с данными о большей плотности h-каналов на апикальных дендритах, по сравнению с сомой. Кроме того, в течение поляризации развивался процесс усвоения ритма сопутствующей тактильной стимуляции, удаленной за пределы рецептивного поля регистрируемой колонки. Тестирование уровня возбудимости колонки показало, что цикл следования волн возбуждения обусловлен процессами гиперполяризации, характерными для работы всех пейсмекерных каналов. Ритм стимуляции может являться датчиком временных интервалов для частотной настройки h-каналов, контролируемых семейством HCN-генов, которые и запускают работу каналов соответствующего частотного диапазона. Время усвоения сопутствующего ритма составляло около 10–15 минут, что сопоставимо со временем активации ранних генов, наблюдаемым в других процедурах обучения.

Полученные результаты свидетельствуют о важной регуляторной роли эндогенных факторов в процессах установления временных связей и запоминания информации.

Применение концепции пула видов для оценки биоразнообразия на примере ВКГПБЗ

Любина Ольга Евгеньевна

студентка 5 курса

Казанский государственный университет Казань, Россия

E-mail: olga1212@inbox.ru

Биологическое разнообразие представляет собой сложное мульти-масштабное и мульти-временное явление с различными уровнями функциональной организации, от генетического до экосистемного уровня. В 1992 году мировое сообщество приняло Конвенцию о биологическом разнообразии для целей сохранения биоразнообразия на различных уровнях. На локальном уровне оценка и сохранение биоразнообразия осуществляется системой заповедников. Наше исследование выполнено, базируясь на материалах, собранных в Волжско-Камском Государственном Природном Биосферном Заповеднике.

Разнообразие видов – центральный компонент оценки биологического разнообразия. Флористическое разнообразие оценивалось

традиционными методами путем расчета различных индексов и метрик. Мы попытались связать традиционные методы оценки биоразнообразия с концепцией пула видов. По Эрикссону под пулом видов понимается набор видов, которые потенциально способны к сосуществованию в некотором сообществе.

Зобель выделяет три теоретических подхода к выявлению пула видов: по экологическому, функциональному и фитосоциологическому сходству. Экологические условия растительного сообщества и его пула могут быть охарактеризованы позицией в пространстве местообитаний, которое можно определить через калибровку. Для определения экологического подобия для каждого участка было найдено среднее значение по шкале Элленберга с последующим анализом в PC-ORD 4. Характеристики видов, определяющие функциональное подобие видов, были найдены из классификации видов по эколого-ценотическим группам и CSR-подходе. Для оценки фитоценотического сходства сообщества были проклассифицированы по методу Браун-Бланке. Протромус синтаксонов включает 9 классов, 13 порядков, 19 союзов и 31 ассоциацию. Картографические слои пространственной дифференциации синтаксонов были построены для уровня ассоциаций и классов. Фитосоциологический подход кажется обещающим для определения пула видов. Пул видов можно охарактеризовать как «нечеткое множество», к которому теоретически могут принадлежать все виды локальной (региональной) флоры, но с разной степенью участия. Эта степень главным образом есть функция сходства между экологическими условиями, при которых виды появляются, и средние экологические условия для целевого сообщества.

Динамика численности популяций *Drosophila* (метод серийного переноса)

Ляпунов Александр Валерьевич

аспирант

Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

E-mail: liapunov.asp@mail.ru

Для формирования моделей использовали метод серийного переноса популяций вида *Drosophila melanogaster*, заложенных от 2 линий дикого типа (M-51 и M-54), их смеси (M-51+M-54), и выборки из природной популяции «Машук». Каждый из вариантов тестировали при различном кормовом режиме (3 мл и 9 мл среды) в 6 повторностях (48 рядов динамики численности продолжительностью 300 дней, 30 учётов, через

10 суток). Линия М-51, по сравнению с линией М-54, обладает более высокой чувствительностью к увеличению плотности популяции. Для такого типа популяций типичен колебательный режим движения численности во времени. Для характеристики амплитуды колебаний использован коэффициент вариации (CV). Значение спада и подъема найдено по разнице между средними 6 максимальных и 6 минимальных значений ряда. Обилие при количестве корма 9 мл выше, чем при 3 мл ($P < 0,001$) для всех типов популяций, CV при большом количестве корма оказался ниже, чем при малом.

Популяции, заложенные от линии М-51, относительно М-54 имеют низкую численность при недостатке корма ($39,3 \pm 1,4$ и $64,0 \pm 2,9$, $P < 0,001$) и высокую при большом его количестве ($283,7 \pm 2,7$ и $221,6 \pm 8,7$, $P < 0,001$). CV при 3 мл корма выше у популяций М-51 ($52,0 \pm 1,7$ и $33,9 \pm 2,7$, $P < 0,001$), а при 9 мл – у популяций М-54 ($7,0 \pm 0,5$ и $17,8 \pm 1,6$, $P < 0,001$). Показатели численности в фазе пика и депрессии для популяций М-51 выше в условиях большого количества корма, а для М-54 – низкого. Модели «М-51+М-54» и «Машук» по всем показателям имеют промежуточное значение. Дисперсионный анализ данных о характере изменения численности мух в зависимости от объема корма и их генотипической структуры, показал достоверное влияние факторов «генотип» ($F=6,75$; $P < 0,001$), «корм» ($F=3705,16$; $P < 0,001$), а также наличие взаимодействия ($F=29,38$; $P < 0,001$) этих переменных. Обнаруженное взаимодействие является доказательством, что популяции различной генотипической структуры по-разному реагируют на изменение объема среды, служащей питанием для личинок, что может существенно определять характеристики динамики численности. Гетерогенные популяции, состоящие из особей адаптированных или к низкому, или к высокому количеству корма (смесь линий и «Машук») должны превосходить по своим адаптивным характеристикам популяции М-51 и М-54 в случае наличия циклического, плотностнозависимого изменения генетической структуры при колебании численности. В нашей ситуации такой селекционный процесс не имеет места вследствие малого числа поколений (не больше 2) который включает полный цикл колебаний численности. В данном случае у гетерогенных популяций происходит только суммация характеристик особей двух линий, что в свою очередь обуславливает промежуточные значения показателей динамики численности.

**Распределение флоры в условиях локальной территории
внутреннегорного Дагестана**

Магомедова М.А., Абдуселимова Н.А, Магомедов Ш.К

д.б.н., доц.; лаборант; студент

Дагестанский государственный университет, биологический факультет,
Дагестан, г. Махачкала

dgu@dgu.ru, dgu@datocom.ru

Приведены сведения о флоре и ее распределении по высотным зонам (1200 – 1800 м. н.у.м.) локальной территории внутреннегорного Дагестана на примере северного склона Хиндайламского хребта. 113 видов семенных растений относятся к 36 семействам, среди которых преобладают Asteraceae и Fabaceae (по 13,2%); Lamiaceae и Rosaceae (9,7%); Rubiaceae и Scrophulariaceae (по 4,2%). Характер субстрата определяет флороценотическую принадлежность представителей - растения скал и каменисто-щебнистых склонов (23,8%). 7 видов из 27 принадлежат к эндемам кавказского и дагестанского корня. Столько же луговых представителей, несколько меньше лесных (21,4%) и степных (17,6%). Такое распределение свидетельствует о том, что в недалеком прошлом изучаемая территория была облесена. Комплекс существующих здесь экстремальных условий способствует формированию и произрастанию оригинальной флоры, которая на 23% кавказского происхождения (автохтонная).

Для экосистем указанной территории характерно проявление вертикальной зональности. Это позволяет разделить местность на три достаточно различные высотные зоны: нагорно-ксерофитная травянистая, начинающаяся с высоты 1200 м. н.у.м.; нагорно-ксерофитная можжевельниковая, берущая начало от 1500 м. н.у.м.; лесная, простирающаяся от 1600 до 1800 м. н.у.м. В I зоне произрастают только низкорослые травянистые растения (49 видов). Растительный покров исключительно разрежен. Во II зоне также собрано 49 видов. Помимо травянистых форм встречаются деревья и кустарники. В III зоне произрастают 42 вида растений, из них 2 эндема. Лесообразующей породой служит сосна Коха. Видовое разнообразие этой зоны не отличается от предыдущих, но обилие растительного покрова почти в 2 раза выше, заметно возрастает высота трав. Наибольшее количество общих видов характерно для I и II зоны (12). Меньшая повторяемость общих видов характерна для II и III зоны (8). По мере повышения высотности от 1200 до 1800 м. н.у.м. происходит изменение спектра видов; 1 представитель (*Psephelus buasia*) обладает способностью произрастать во всех трех зонах.

Распределение видов растений на изучаемой территории свидетельствует о приуроченности их к высотным зонам. Максимум повторяющихся видов I и II зон свидетельствует об однотипных условиях существования. Отсутствие общих видов I и III зоны свидетельствует о различных экологических условиях обитания, делая невозможной миграцию видов.

**Структура и функциональные взаимодействия 1A2 инсулятора у
*Drosophila melanogaster***

Максименко О.Г., Георгиев П.Г.

аспирант

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

E-mail: maksog@mail.ru

В работе исследована структура и свойства 1A2 инсулятора *Drosophila melanogaster*. Ранее показано, что ДНК последовательность 1A2 инсулятора длиной 454 п.н. содержит 2 Su(Hw)-связывающих сайты, что, вероятно, 1A2 и Su(Hw) инсуляторы работают по одинаковому механизму. Было показано, что мутации по белку Su(Hw) снижали инсуляторную активность 1A2 инсулятора. При тестировании участка ДНК длиной 135 п.н. из 3' области инсулятора, содержащего Su(Hw)-сайты, инсуляторная активность у элемента отсутствовала. Ранее показано, что с 5' областью 1A2 инсулятора связывается белок CP190. Между CP190- и Su(Hw)-связывающими участками обнаружена область высокой гомологии с районом из мобильного элемента *jockey*. Предполагается, что участок, включающий CP190-связывающую область и гомологию с *jockey*, не обладает инсуляторной активностью. Для подтверждения протестирована последовательность длиной 236 п.н. из 3' области инсулятора, в состав которой, кроме CP190-связывающего участка, входил 135 п.н. участок с Su(Hw)-сайтами. Элемент 1A2²³⁶ был вставлен между энхансерами и промоторами генов *yellow* и *white*. В большинстве трансгенных линий мух энхансеры оказались неспособными активировать промоторы генов, экспрессия которых оставалась на базовом уровне. При удалении элемента 1A2²³⁶ из конструкции энхансеры нормально активировали промоторы маркерных генов. При удалении энхансера гена *white*, в случае удаленного 1A2 элемента уровень экспрессии *white* уменьшался до базового уровня, при наличии 1A2 элемента - оставался на прежнем уровне. Результаты показывают, что элемент обладает нормальной инсуляторной активностью, для проявления которой не требуется белок

CP190. Для работы 1A2 инсулятора, помимо белка Su(Hw), требуются дополнительные белковые компоненты. Показана возможность взаимодействия 2-х и 3-х 1A2 инсуляторов, 1A2 с Su(Hw) и *mini-white* инсуляторами. Продемонстрирована возможность взаимного влияния разных гетерогенных инсуляторов друг на друга, что приводило к изменению их инсуляторной активности.

Воспроизводство микижи (*Parasalmo mykiss W.*) в реке Коль

Мальцев Александр Юрьевич

Аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: salmo@narod.ru

Один из представителей рода *Parasalmo*, микижа (*Parasalmo mykiss W.*), включенная в Красную книгу РФ, имеет глобальное значение для сохранения биоразнообразия (Павлов, Савваитова, 1996). Только на Камчатке этот вид представлен почти единственными в мире дикими популяциями. Это делает их уникальным модельным объектом для изучения проблем воспроизводства, происхождения, микроэволюции, механизмов формирования внутривидового эпигенетического разнообразия и жизненной стратегии на ареале вида в целом, в Азии и в Америке (Павлов и др. 2001). Данный вид имеет сложную внутривидовую структуру и представлен резидентной и проходной жизненными стратегиями. Исследования, начавшиеся в 1965 году, до сих пор не давали четкого представления о воспроизводстве микижи (Максимов, 1972). Известно, что нерест тихоокеанских благородных лососей происходит весной, в отличие от массовых видов тихоокеанских лососей.

Отдельные черты экологии размножения видов можно рассматривать как частные адаптации каждой формы и каждой популяции к специфическим условиям обитания в том или ином водоеме. Изучение репродуктивной экологии микижи (наиболее важного этапа во всем жизненном цикле вида) является приоритетной задачей. Специфика экологии размножения популяции микижи в р. Коль особо интересна из-за ее сложной геоморфологии.

Нами исследованы особенности нереста проходной и резидентной микижи. Найдены и описаны ранее неизвестные нерестилища. Определена приуроченность и связь времени, выбора места нереста с определенными абиотическими факторами. Исследовано нерестовое и

посленерестовое поведение проходной и резидентной микижи. Изучен фракционный состав нерестовых бугров и гидродинамические особенности. Определены сроки раннего развития микижи.

Нерестилища располагаются в самых теплых участках речной системы, для Камчатки это нижнее и среднее течение тундровых притоков в местах даунвелинга – граница плеса перед перекатом, место входа теплых русловых вод в грунт. Фракционный состав нерестовых бугров сходен в различных притоках и представлен в основном мелким и средним гравием. Раннее развитие микижи длится в течение 35 - 45 дней. Нерест проходной и резидентной микижи происходит в одно и тоже время в одних и тех же местах. Обнаружено, что особи с разной жизненной стратегией размножаются совместно. Выжившие после нереста производители резидентной микижи расселяются по всей речной системе. Проходная форма сразу после нереста уходит в море на летний нагул и заходит в реки на зимовку поздней осенью.

Реакции сердца на дозированное повышение внутрилегочного давления

Маркова Ксения Борисовна

Студент

Тверской государственный университет, биологический факультет,
Тверь, Россия
ayinesk@mail.ru

У 5 женщин 20-24 лет с использованием поликардиографического метода изучена динамика фаз и периодов сердечного цикла в условиях ступенчатого повышения внутрилегочного давления от 0 до 40 мм рт.ст. В качестве регистратора использовался ЭЛКАР-6. Контроль над точностью выполнения задания производился при помощи манометра. Обнаружено, что при ступенчатом повышении внутригрудного давления период напряжения (ПН) изменялся фазово: при давлении 10 мм рт.ст. этот показатель несколько уменьшался, а затем по мере повышения внутригрудного давления - увеличивался. Фазы асинхронного (ФАС) и изометрического (ФИС) сокращения по мере нарастания внутригрудного давления изменялись разнонаправленно: ФАС закономерно увеличивалась, ФИС уменьшалась. Время ФАС, зависит от давления наполнения желудочков кровью и от частоты сердечных сокращений (ЧСС) (в нашем случае давление наполнения уменьшается, что ведет к уменьшению систолического объема и компенсаторному повышению ЧСС). Достоверное укорочение ФИС, по-

видимому, связано с увеличением сократительной способности миокарда. Длительность периода изгнания (ПИ) в этих условиях достоверно уменьшалась. По нашим данным, на эти изменения существенное влияние оказывало закономерное укорочение фазы медленного изгнания (ФМИ). Фаза быстрого изгнания при этом укорачивалась не так заметно. Зависимость от величины внутригрудного давления длительности ПИ и ФМИ наблюдалась лишь до 30 мм рт.ст. Дальнейшее повышение внутрилегочного давления уже не вызывало дозозависимого эффекта. Дело в том, что натуживание сопровождается напряжением экспираторных мышц. Р.Маршалл и Дж.Шеферд (1972) установили, что срочная реакция (укорочение сердечного цикла - RR) обуславливается, главным образом, ослаблением импульсации в тормозящих сердце нейронах вагуса. Таким образом, при дозированном натуживании мы можем ожидать положительные хронотропный и инотропный эффекты, что отражается в укорочении ФИС и дозозависимом уменьшении RR, а не только компенсаторное увеличение ЧСС при снижении систолического объема. Длительность сердечного цикла (RR) с повышением внутригрудного давления уменьшалась. При этом электрическая систола (QT) практически не изменялась, общая систола (OC) лишь имела тенденцию к уменьшению, а механическая систола (MC) достоверно уменьшалась. Закономерные дозозависимые уменьшения продолжительности были обнаружены у диастолы (D). Продолжительность протодиастолы (П) невелика и имеет тенденцию к укорочению по мере повышения внутригрудного давления.

**Генетическое разнообразие и генотипические связи в стаде свиней
Катуньского типа крупной белой породы.**

Медведева Жанна Владимировна

старший преподаватель, к. с.-х. наук

Алтайский государственный аграрный университет, Барнаул, Россия

С целью повышения результативности селекционной работы в стаде свиней Катуньского типа крупной белой породы в условиях Алтайского края проведены иммуногенетические исследования на чистопородном поголовье. В оценку были взяты 74 хряка и 135 маток.

Выявлена частота встречаемости желательных генотипов в системах крови G, H, F, D, K, E, L. Даны рекомендации по оптимизации отбора с учетом генотипа по группам крови. Показано, что в локусе G у хряков и свиноматок примерно равная доля желательных генотипов G a/b и G b/b

43 – 46 % и 53 – 57 % соответственно, обладатели таковых являются более скороспелыми и имеют наименьшую толщину шпика. У хряков полностью отсутствует нежелательный генотип G a/a, В стаде свиней доля генотипа -/- в локусе H составляет 43% у свиноматок и хряков. Из-за высокой концентрации аллеля Fb в стаде высока относительная доля генотипа b/b в локусе F –96,2-97,3%. То же самое наблюдается в локусе D. Более приспособленными к факторам среды в хозяйстве оказались свиноматки с генотипом K -/-, доля которых в стаде достигла 73%. У хряков сложилась равновесная ситуация с численностью генотипов K a/- и K -/- (50%). По системе E ситуация по хрякам и свиноматкам различна. У свиноматок наибольшее число особей с генотипом E edg/edg- 31%, а среди хряков с генотипом E aeg/bdg и bdg/edg –35,2 и 29,7 %%. У хряков отсутствуют традиционные генотипы aeg/bdf, bdg/bdg, edg/edf. По локусу L разнообразие у хряков и маток примерно одинаковое, но весовые коэффициенты генотипов разные. У хряков доли генотипов практически равны 22-30% и у них отсутствует генотипы bcgi/bcgi, а доля генотипа bdfi/bdfi –2,7%. У свиноматок резко выделяется по численности генотипы bcgi/bcgi –39% и bcgi/bdfi –33%, остальные генотипы занимают 2-18% от общего числа. Генетическая структура стада остается высокоценной, но наблюдается тенденция к изменению генотипа в сторону генетической неперспективности из-за процесса накопления генов и генотипов адаптивного непродуктивного характера (особенно в открытых локусах E и L).

**Особенности функциональной мануальной асимметрии
субъективных правшей и левшей**

Медведева Надежда Евгеньевна, Шляпников Михаил Ферапонтович
студент, доцент

Тверской государственный университет, г. Тверь, Россия

E-mail: nsherbacova_med@mail.ru

Деятельность современного человека связана с большим количеством процессов происходящих случайно и изменяющихся непрерывно. Организму постоянно приходится реагировать на огромное число событий, при этом в некоторых условиях точность и готовность к реакции играет значительную роль. Особую роль при этом играет скрытый период произвольной зрительно-моторной реакции человека, который отражает не только центральное время двигательной реакции, но и функциональное состояние высших отделов управления

движениями, в частности сенсомоторных и ассоциативных зон коры больших полушарий.

Согласно концепции системогенеза, неравномерность созревания нервных элементов и связей между ними объясняется их вовлечением в структуру различных функциональных систем. Поэтому все чаще характер функциональной моторной асимметрии рассматривают в качестве биологической предпосылки, определяющей специфику двигательных способностей.

Целью нашей работы было изучение и сравнение показателей сенсомоторной деятельности субъективно праворуких и леворуких исследуемых. В эксперименте приняли участие 75 практически здоровых женщин, 57 субъективных правшей и 18 субъективных левшей в возрасте 17 – 23 лет. Все исследуемые являются студентами. Было проведено 60 экспериментов с участием правшей и 20 с участием левшей. У испытуемых фиксировались: значение теппинг-теста за 10 секунд, латентный период простой и дифференцированной зрительно-моторной реакции. Анализ полученных данных показал, что межгрупповые различия средних значений сложных форм сенсомоторной деятельности (латентный период простых и дифференцированных двигательных реакций) между правшами и левшами отсутствуют. Праворукость является субъективной и при усложнении форм сенсомоторной деятельности нивелирует, что подтверждает принцип убывающей специфичности. Наблюдается большая стабильность ведущей руки как у правшей так и у левшей, что можно объяснить сложившимися в онтогенезе двигательными стереотипами. Корреляционный анализ показал тесную ($P < 0,01$) функциональную связь между показателями правой и левой рук правшей при совершении циклических движений в произвольном и заданном ритме, что говорит о тесной взаимозависимости между нервными центрами правого и левого полушарий при построении движений. Взаимосвязь полученных показателей, объединенных в функциональную систему целенаправленной деятельности, различно у правшей и левшей. Количество достоверных связей исследуемых показателей больше в группе правшей, чем в группе левшей. Можно предположить, что у субъективных правшей в процессе выполнения зрительно-моторной пробы образуется функциональная система с большим количеством внутрисистемных связей.

**Роль растительных ассоциаций в выборе волком пути и факторы,
влияющие на выбор места для устройства логова**

Мельник Ксения Сергеевна

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: ksy-melnik@yandex.ru

Цель работы – выявить влияние растительных ассоциаций на выбор волками (*Canis lupus lupus*) пути в границах их семейного участка, а также факторы, наиболее важные при выборе места для устройства логова. Работа проводилась в заповеднике "Калужские засеки" в рамках многолетнего мониторинга семейной группы волков. Материал собран с ноября по апрель 2000-2004 гг. Обработаны данные 49 маршрутных передвижений (135,5 км) 23-х зверей одной семейной группы. Обнаружены и описаны шесть логовищ волков. Площадь семейного участка стаи варьировала от 105 до 132 км². Маршруты волков наносили на карту при помощи спутниковой навигационной системы GPS.

Для заповедника "Калужские засеки" характерна высокая мозаичность биотопов, в связи с чем волки могут свободно и быстро переходить из одной растительной ассоциации в другую. Сравнивали коэффициенты избирательности биотопов, то есть длину пути животного в данном биотопе, отнесенную к общей длине тропления и к доле биотопа на изучаемой территории. Сравнение реальных маршрутов волков со случайными маршрутами, сгенерированными по методу Монте-Карло, проводили с использованием критерия Вилкоксона. Показано, что березняки неморальные ($p=0,04$) и смешанные ($p=0,04$), а также широколиственные леса ($p=0,03$) волки посещают чаще, а березняков лугово-опушечных ($p=0,047$) избегают. Существует тенденция частого посещения сосняков неморальных ($p=0,08$) и редкого – лугов гигрофитных ($p=0,06$). По абсолютному значению различия между коэффициентами избирательности упомянутых биотопов незначительны, что свидетельствует о слабо выраженной биотопической избирательности у волков. Неравномерность расположения волчьих троп в различных растительных формациях можно по-видимому связать со следующими факторами: уровнем снежного покрова, наличием подроста и валежника (удобством передвижения), вероятностью встречи жертвы в данной растительной ассоциации и с расположением мест-аттракторов (дневок, логовищ).

Несмотря на высокую мозаичность биотопов на территории семейного участка стай, все обнаруженные нами логова находятся в сходных биотопах: в мелколиственном или широколиственном лесу на границе с ельником, с большим количеством валежника, что обеспечивает незаметность логова. Наиболее важными критериями при выборе места для устройства логовища служат: наличие поблизости воды; сухая почва, которую легко копать; экспозиция и крутизна склона; защищенность места; малая вероятность посещения человеком. Важность наличия скоплений жертв в районе логова не подтверждается.

**Влияние УФ(В)-излучения на активность некоторых
антиоксидантных ферментов плазмы крови животных**
Михаилов Иван Викторович

Студент кафедры биофизики Биологического факультета МГУ
Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: evanmih@gmail.com

Для коррекции антиоксидантного статуса организма и предотвращения развития побочных эффектов в здоровых тканях при радиотерапии злокачественных опухолей применяют воздействие на кровь неионизирующих излучений. В работе изучено влияние ультрафиолетового излучения группы В (280-320 нм) на антиоксидантные ферменты плазмы крови животных — супероксиддисмутазу (СОД) и церулоплазмин (ЦП), играющие важную роль в поддержании антиоксидантного статуса организма посредством нейтрализации супероксид-анион радикала (СОД и ЦП) и регуляции уровня ионов металлов переменной валентности (Cu, Fe) в крови (ЦП). В экспериментах *in vivo* УФ(В)-излучение вызывала разнонаправленное модифицирующее действие на индуцированную иммобилизационным стрессом стимуляцию активностей СОД и ЦП в плазме крови животных: активность СОД увеличивалась, а ЦП снижалась, что свидетельствует о разной чувствительности этих ферментов к системному действию УФ-излучения. Эксперименты *in vitro* с различными дозами излучения (8,5-25 кДж/м²) на активность СОД и ЦП в плазме крови крыс также показали разную чувствительность СОД и ЦП к действию излучения: активность ЦП снижалась после облучения плазмы, активность СОД не менялась. Полученные изменения кинетических характеристик ЦП при действии излучения указывают на неконкурентный тип ингибирования активности фермента. Изучение

УФ(В)-индуцированных изменений уровня гидроперекисей, ТБК-активных продуктов и карбонильных соединений в плазме не выявило наличия связи с наблюдаемыми изменениями ЦП. Природные антиоксиданты (восстановленный глутатион и таурин) не оказывали защитного действия на активность ЦП, что указывает на непричастность АФК к снижению активности этого фермента. Отсутствие эффекта при облучении цельной крови, проявление эффекта в плазме в меньшей степени по сравнению с облучением чистого фермента и почти полная защита чистого фермента нитропруссидом натрия, обладающим спектром поглощения в той же области, что и ЦП, свидетельствуют о прямом действии УФ(В)-излучения на ЦП и высокой УФ-чувствительности этого фермента.

Гидробиологический мониторинг водоемов г. Сургута

Михалдыко Наталья Петровна

аспирант

Сургутский государственный университет, Сургут, Россия

Целью наших исследования явилось определение качества воды и степени сапробности водоемов г. Сургута на основе биоиндикаторных свойств зооперифитона.

Изучение гидробионтов проводилось на водоемах г. Сургута, являющихся местами отдыха горожан в июле, сентябре 2002 г. Отбор проб организмов-обрастателей осуществлялся по стандартной методике. Всего было исследовано 4 точки отбора проб (в дальнейшем створы).

Для оценки влияния загрязнения были использованы: метод расчета индекса сапробности Пантле-Букка, метод расчета биотического индекса по Вудивиссу, хирономидный индекс Балушкиной.

При сравнении полученных результатов от трех методов можно отметить почти полное их совпадение. Надо сказать, что более удобным и объективным оказался метод расчета сапробности по Пантле-Букку.

На основе полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Прикрепленная фауна гидробионтов исследуемых биотопов водоемов г. Сургута довольно богата и разнообразна, особенно представлена группа хирономид.
2. По результатам исследований вода во всех изученных створах является β -мезосапробной, то есть слабо загрязненной. Таким образом, полученные величины индексов сапробности

- свидетельствуют об удовлетворительном качестве воды исследуемых водоемов г. Сургута.
3. Из всех использованных методов наиболее показательным при определении экологического состояния водоемов был признан метод расчета сапробности, предложенный Пантле и Букком.
 4. Анализ данных позволил сказать, что исследованные водоемы г. Сургута испытывают антропогенное влияние. Загрязняющие вещества поступают в них с поверхностным стоком и хозяйственно-бытовыми смывами частного сектора. Основными факторами, действующими на водоемы урбанизированных территорий, являются органические и минеральные вещества, попадающие в водоем с дождевыми и снеговыми водами.
 5. В целом урбанизация территорий, сопровождающаяся загрязнением водоемов, наиболее сильно воздействует на видовое разнообразие и численность беспозвоночных животных зооперифитона, что и выявилось в результате наших исследований.

Особенности объемно-временной структуры дыхательного цикла при заданной внутренней речи

Морозов Глеб Игоревич

кандидат биологических наук

Тверской государственный университет, Тверь, Россия

E-mail: physiol@tversu.ru

К примерам произвольного управления дыхательными движениями можно отнести "речевое дыхание". Ранее нами было выявлено, что при звуковой речи взаимодействие механизмов произвольного управления дыхательными движениями и автономных механизмов регуляции дыхания позволяет поддерживать объем вентиляции легких на уровне, соответствующем потребностям метаболизма. При этом ведущая роль принадлежит торакальному компоненту системы дыхания. Однако помимо внешней (звуковой) речи существует внутренняя речь. Меняется ли структура дыхательного цикла и поведение торакального и абдоминального компонентов при внутренней речи? Попытка ответить на эти вопросы и послужила целью настоящей работы. В исследовании участвовали 10 мужчин 22-27 лет. В исследовании использовался метод компьютерной безмасочной пневмографии. Кроме того, регистрировались парциальное давление CO₂ в альвеолярном воздухе и оксигенация артериальной крови. В первой серии, после регистрации параметров спонтанного дыхания, испытуемые воспроизводили с

обычной громкостью циклически повторяющийся счет от 1 до 8. Во второй - воспроизвели тот же счет «про себя». Исходно вентиляция легких испытуемых обеспечивается практически в равной степени за счет торакальной (ThV_T) и абдоминальной (AbV_T) составляющих дыхательного объема. Соотношение временных характеристик дыхательного цикла соответствует типичному для спонтанного дыхания: вдох (T_I) несколько короче выдоха (T_E), у всех испытуемых отмечается постэкспираторная пауза (T_P). При произнесении ритмичного циклически повторяющегося текста с обычной громкостью объемно-временная структура дыхательного цикла существенно меняется. Скорость выдоха уменьшается до $64,8 \pm 6,9\%$ от спонтанной величины. Как следствие за счет увеличения времени выдоха ($r = -0,92$ при $P < 0,01$) уменьшается частота дыхания до $65,3 \pm 4,4\%$ от исходной. Урежение дыхания компенсируется увеличением дыхательного объема, в основном за счет торакальной составляющей объема вдоха ($r = 0,92$ при $P < 0,01$) и скорости вдоха. В результате, объем вентиляции легких при речи сохраняется на уровне спонтанного. При воспроизведении заданного ритмичного текста "про себя" временная структура дыхательного цикла также приобретает черты, характерные для речевого дыхания. При этом частота дыхания за счет достоверного увеличения времени выдоха ($r = -0,90$ при $P < 0,01$) уменьшается до $75,2 \pm 7,6\%$ от исходной, уменьшается скорость выдоха до $52,8 \pm 7,6\%$, отмечается тенденция к уменьшению времени вдоха. Дыхательный объем не увеличивается, однако отмечается характерная для речевого дыхания тенденция к увеличению торакального вклада в объем вдоха. Таким образом, при заданной ритмичной внутренней речи система произвольного управления настраивает дыхательные движения на ритм, соответствующий звуковой речи.

**Новая методика определения микробной обсеменённости воздуха
животноводческих помещений.**

Морозов Виталий Юрьевич

Руководитель отдела НИРС, кандидат ветеринарных наук
ФГОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет

По мнению учёных от условий содержания животных во многом зависит как их резистентности, так и экономическая эффективность той или иной отрасли животноводства. Поэтому при санитарно-гигиенической оценке помещений особое внимание уделяется микробной обсеменённости воздуха.

Своевременная индикация микроорганизмов в организме животных и основных элементах внешней среды, количественная и качественная оценка популяций позволяет предвидеть возможность возникновения, развития и распространения болезней. Объективная оценка микробного фона воздушной среды может быть проведена в результате применения наиболее эффективных методов обнаружения и анализа биологических аэрозолей.

В литературе приводятся разные методы отбора микроорганизмов из воздуха: способ, предложенный Р.Кохом; аспирационно-осадочный метод определения микроорганизмов аппаратом Ю.И. Кротова; методы Дьяконова, Матусевича, Милявской.

Описанные методы имеют как положительные стороны, так и недостатки. Но все они не являются достаточно точными и не отличаются полнотой исследований.

Нами предлагается прибор для улавливания микроорганизмов (патент). Принцип индикации основан на улавливании микроорганизмов в ёмкость с улавливающей жидкостью, отделении аэрозольных частиц от газовой фазы и последующей концентрации их в улавливающей жидкости, либо на поверхности фильтра.

Благодаря данным техническим решениям исследование микрофлоры воздуха может осуществляться по нескольким показателям: общей микробной обсеменённости воздушной среды путём высева улавливающей жидкости; путём концентрации микроорганизмов на фильтре и наложении его на среду Эндо и определения Коли-индекса воздуха; путём окрашивания фильтра карболовым эритрозином и прямым подсчётом микроорганизмов под микроскопом. Большое значение имеет возможность определения не только общего количества микроорганизмов, но также коли-титра и прямого подсчёта микроорганизмов под микроскопом, т.к. патогенное влияние на животных оказывают не только живые, но и мёртвые микроорганизмы.

Проведенные сравнительные испытания предлагаемого нами прибора для улавливания микроорганизмов и аппарата Кротова показали, что в сконструированном нами приборе определяется концентрация микроорганизмов в 3-6 раз выше.

* Пат. № 37097 Российская Федерация, МПК⁷ 7C12N 1/00 . Прибор для улавливания микроорганизмов / Дмитриев А.Ф., Морозов В.Ю., Краснощёкова Ю.В.; Заявитель ФГОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет. - №2003134772/20; заявлено 01.12.2003; опубликовано 10.04.2004, Бюл №10 (IVч). – 1с.

**Влияние концентрации ионов кальция на нейрогенные ответы
хвостовой артерии у крыс разного возраста**

Мочалов Степан Вячеславович

Студент 5 курса

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: hippo.step@gmail.com

Среди систем, регулирующих тонус кровеносных сосудов, важная роль принадлежит симпатической нервной системе. Симпатические влияния на сосуды передаются с помощью норадреналина (НА), а также других нейромедиаторов, одним из которых является АТФ. В процессе онтогенеза медиаторные характеристики симпатических волокон могут изменяться: у молодых крыс роль АТФ более значительна, чем у взрослых. Известно, что вклад АТФ в нейрогенный ответ сосуда зависит от длительности раздражения, при этом пуринергический компонент реакции сильнее подавляется при снижении внеклеточной концентрации Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_o$). Целью данной работы было сравнить влияние $[Ca^{2+}]_o$ на нейрогенные констрикторные ответы сосудов у крыс разного возраста.

В экспериментах использовали две группы самцов крыс (в возрасте 1,5 мес. и 4–5 мес.). Выделяли хвостовую артерию и перфузировали ее в режиме постоянного расхода. Раздражение нервов проводили короткими пачками из 10, 20 и 30 импульсов (300 мА, 0,2 мс, частота импульсов в пачке 20 Гц). Кроме того, проводили длительное раздражение нервов в течение 1 мин с частотой 10 Гц (600 импульсов). В работе были выбраны значения $[Ca^{2+}]_o$ 1 мМ и 2,5 мМ, т.к. они близки к физиологическому значению $[Ca^{2+}]_o$ (~ 1,3 мМ), но вместе с тем такое изменение $[Ca^{2+}]_o$ существенно влияет на величину нейрогенного ответа. Для исследования влияния $[Ca^{2+}]_o$ на ответ сосуда при активации постсинаптических α -адренорецепторов исследовали реакции на экзогенный НА (0,1, 0,3 и 1 мкМ). Величину констрикторного ответа оценивали по повышению перфузионного давления.

С увеличением числа импульсов в пачке сократительный ответ сосуда увеличивается как у взрослых крыс, так и у молодых; у молодых животных ответ меньше, чем у взрослых. У обеих групп крыс реакция сосуда на одинаковое раздражение выше при $[Ca^{2+}]_o$ 2,5 мМ, чем при 1 мМ, но реакции сосудов на НА при двух значениях $[Ca^{2+}]_o$ не различаются. Подавление нейрогенного ответа сосуда на короткую пачку из 10 импульсов при снижении $[Ca^{2+}]_o$ у обеих групп животных

достоверно больше, чем ответов на длинные пачки из 20, 30 и 600 импульсов. Степень подавления ответа на стимуляцию нервов у взрослых животных такая же, как и у молодых.

Таким образом, снижение $[Ca^{2+}]_o$ приводит к уменьшению секреции нейромедиаторов при раздражении периартериальных нервов, причем первая фаза секреции медиатора сильнее зависит от $[Ca^{2+}]_o$. Это может быть обусловлено тем, что вклад АТФ при таких параметрах раздражения больше, чем вклад НА. Степень подавления нейрогенного ответа при снижении $[Ca^{2+}]_o$ у молодых и взрослых крыс не различается, что, по-видимому, связано с недостаточной разницей в возрасте.

Получение набора рекомбинантных ДНК, содержащих различные сочетания субповторов внешнего транскрибируемого спейсера рибосомной ДНК рыжего таракана, на основе «артефактной» ПЦР

Мысина Вера Александровна, Муха Дмитрий Владимирович

Младший научный сотрудник

Институт Общей Генетики им. Н.И. Вавилова, Россия, Москва

E-mail: mysina@inbox.ru

Внешний транскрибируемый спейсер (ETS) рибосомной ДНК эукариот играет важную роль в регуляции активности промотора РНК полимеразы I. Субповторы, локализованные в этой области генома, играют важную функциональную роль, модулируя экспрессию генов рРНК. Клонированы и секвенированы протяженные участки рДНК, содержащие ETS 3 видов тараканов рода *Blattella*. Структура ETS различается у исследованных видов: главные различия заключаются в числе и порядке расположения субповторов. Вероятно, описанные структурные могут коррелировать с уровнем экспрессии рРНК.

Для проверки этого предположения необходимо создать серию векторных конструкций для трансфекции пересееваемой культуры клеток рыжего таракана и последующего анализа уровня транзиторной экспрессии. В состав таких векторов должны входить следующие элементы: маркерный ген, промотор РНК полимеразы I и варианты ETS, содержащие различные наборы исследуемых субповторов.

Для получения фрагментов ДНК, содержащих разные количества и типы сочетаний субповторов ETS, использовали подход, основанный на особенностях протекания ПЦР участков ДНК, содержащих субповторы. В процессе амплификации может происходить формирование *in vitro* рекомбинантных ПЦР-продуктов, в результате отжига на одном из первых циклов амплификации вместо праймера более протяженной

частично элонгированной односторонней последовательности (см. рисунок).

Получено более 10 различных сочетаний субповторов ETS, которые в дальнейшем будут использованы для получения векторных конструкций и анализа функциональной роли спейсерных последовательностей рДНК.

**Особенности инфрадианной ритмики бактерицидных систем
нейтрофилов у крыс с высокой двигательной активностью под
влиянием слабого переменного магнитного поля сверхнизкой
частоты**

Нагаева Елена Ивановна

аспирант

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского,

Симферополь, Украина

E-mail: timur@crimea.edu

Наряду с циркадианной ритмичностью большое значение имеют инфрадианные ритмы (ИР), которые проявляются в деятельности практически всех физиологических систем организма человека и животных и составляют часть временной организации биологических систем. Предполагается, что датчиком времени для этого диапазона, являются слабые переменные магнитные поля (ПеМП) сверхнизкой частоты (СНЧ).

Целью настоящего исследования явилось сравнение влияния ПеМП СНЧ на ИР физиологических систем у крыс с типичной и высокой толерантностью к действию ПеМП. Показано, что животными с низкой чувствительностью являются крысы с высокой двигательной активностью (ВДА) в тесте «открытое поле». Выбор в качестве объекта исследования бактерицидных систем нейтрофилов крови (пероксидазы и катионных белков) объясняется их высокой чувствительностью к действию ПеМП СНЧ.

Показано, что в инфрадианном диапазоне ритмика показателей функциональной активности нейтрофилов отличается у животных со СДА и ВДА. Эти отличия заключаются в неодинаковом наборе периодов в спектрах мощности, области их выявления, количестве периодических составляющих, амплитуде выделенных ритмов, сдвиге фаз, а также различной степени синхронизации изученных процессов.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что воздействие слабого ПеМП частотой 8 Гц и индукцией 5 мкТл в течение

32 суток вызывает существенные изменения параметров ИР физиологических процессов у крыс с различными индивидуально-типологическими особенностями, но более выражены они у крыс с СДА. Следует отметить, что существенные изменения параметров ритмики отмечаются даже в том случае, когда их абсолютные значения не меняются.

В результате действия ПеМП СНЧ изменения параметров инфрадианной ритмики функциональной активности нейтрофилов у животных со СДА и ВДА становятся менее выраженными. Синхронизирующее влияние ПеМП СНЧ на инфрадианную ритмику животных с различными индивидуальными особенностями, вероятно, объясняется способностью данного фактора изменять функциональную активность эпифиза, являющегося одним из основных пейсмекеров в изучаемом диапазоне периодов.

Влияние сублетальной концентрации кадмия на тонкую структуру клеток головной и туловищной почек карпа

Назарова Екатерина Александровна

аспирант

Институт биологии внутренних вод им. Папанина РАН
152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок, Россия;
E-mail: nazarova@ibiw.yaroslavl.ru

Кадмий поступает в водоемы со стоками промышленных и сельскохозяйственных предприятий и считается наиболее токсичным среди тяжелых металлов для почек рыб.

Исследование изменений структуры иммунокомпетентных клеток головной и туловищной почек годовиков карпа (длиной $17,18 \pm 0,93$ см и массой $108,35 \pm 15,6$ г) под действием сублетальной концентрации соли кадмия (5 мг/л по иону кадмия) проводили методом электронной микроскопии. Пробы тканей отбирали через 2 недели экспозиции от 5 рыб в опытной и контрольной группах. Контролем служили интактные рыбы.

Результаты исследований показали, что лимфомиелоидная ткань головной почки у контрольных рыб состояла преимущественно из лимфоцитов и молодых гранулоцитов, которые находились на стадиях промиелоцита и метамиелоцита. Зрелые формы гранулоцитов практически отсутствовали. Отмечено наличие небольшого количества макрофагов. Интерстициальная ткань туловищной почки исследуемых особей располагалась между структурами, выполняющими

выделительную функцию, и имела несколько иной состав клеток по сравнению с головной почкой: большинство гранулоцитов представлено зрелыми формами клеток, повсеместно встречались макрофаги, клетки с радиально расположенными везикулами и палочковые клетки.

Установлено, что кадмий оказал влияние на структуру клеток, как головной, так и туловищной почки исследуемых рыб. В митохондриях большей части гранулоцитов в обоих органах наблюдали просветление матрикса и частичное или полное разрушение крист. В ядрах части лимфоцитов произошло образование ядерной петли, которая могла возникнуть в результате расслоения ядерной мембраны. По сравнению с контролем увеличилось количество макрофагов, цитоплазма которых содержала большое количество фагосом с разрушенными остатками различных клеток. В головной почке обнаружены фагоцитирующие нейтрофилы, а также лимфоциты с поврежденными митохондриями. Следует отметить факт выброса содержимого палочковых клеток туловищной почки через выводной канал в межклеточное пространство. Таким образом, данная концентрация кадмия оказалась токсичной для клеток, как головной, так и туловищной почек, вызвав повреждение энергетических и информационных структур клеток и активизацию фагоцитоза.

Изучение структуры белка оболочки Х-вируса картофеля в свободном состоянии и в составе вириона

Немых Мария Александровна, Козловский Владимир Сергеевич

Аспирант, научный сотрудник, к.ф.-м.н., доцент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: nemykh@belozersky.msu.ru

Среди всех групп спиральных вирусов растений группа потексвирусов является одной из наиболее изученных. Тем не менее, вторичная и третичная структура белка оболочки (БО) типового представителя этой группы – Х-вируса картофеля (ХВК) в составе вириона и в свободном состоянии остается до сих пор неизвестной. Этот белок не образует спиральных агрегатов, вступает *in vitro* только в неспецифическую самосборку с собственной РНК (Tollin & Wilson, 1988; Dobrov & Atabekov, 1989) и претерпевает глубокую структурную перестройку («ремоделирование») в составе вирионов после взаимодействия с кодируемым вирусом неструктурным 25 К-белком (Rodionova et.al., 2003). Поэтому мы начали исследование структуры БО ХВК в

свободном состоянии и в составе вирионов с помощью целого набора физико-химических методов (КД-спектроскопии в «дальнем» и «ближнем» УФ-свете, флуоресцентной спектроскопии, дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и т.д.).

Оказалось, что по данным всех этих методов в составе вирионов ХВК обладает достаточно высокой стабильностью. При нагревании вирионов ХВК разворачивание молекул БО по данным вышеперечисленных методов происходило только при 60 °С в ходе разрушения вирусных частиц. Однако в выделенных литиевым или ацетатным методами препаратами, субъединицы БО характеризовались гораздо более низкой стабильностью. При комнатной температуре молекулы этого белка обладали некой фиксированной третичной структурой, но и по данным ДСК и по данным оптических методов (спектры собственной флуоресценции и «ароматические» спектры КД) разрушение этой структуры происходило уже в районе 33-35 °С. Охлаждение препаратов БО ХВК до комнатной температуры не приводило к восстановлению исходной третичной структуры. Кроме того, по данным оптических методов, третичная структура молекул БО ХВК в растворе разрушалась при комнатной температуре в присутствии всего нескольких молекул анионного детергента додецилсульфата натрия или катионного детергента цетилтриметиламмонийбромида на субъединицу белка.

Все вышеперечисленные воздействия не вызывали никаких изменений в содержании α -спиральных участков в молекулах свободного БО ХВК.

Из полученных данных следует, что субъединицы БО ХВК обладают в растворе некой фиксированной, но крайне нестабильной третичной структурой. Возможно, такая структура молекул БО ХВК в растворе является отражением склонности этого белка претерпевать конформационную перестройку («ремоделирование») в составе вирионов под действием 25 К белка.

**Новая алкалофильная сульфатвосстанавливающая бактерия из
щелочного озера Южного Забайкалья**

Непомнящая Яна Николаевна¹, Щербакова Виктория Артуровна²

¹студент, ²кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

¹Кубанский государственный университет, биологический факультет,
Краснодар, Россия

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина
РАН, Пущино, Россия

E-mail: yanann@rambler.ru

Алкалофильные сульфатвосстанавливающие бактерии (СВБ) занимают уникальные экологические ниши – водоемы с высокой соленостью и щелочностью, в которых бактериальная сульфатредукция является терминальным процессом анаэробной деструкции органического вещества. Из известных на данный момент родов СВБ только три рода включают в себя истинных алкалофилов: *Desulfotomaculum alkaliphilum*, *Desulfonatonovibro hydrogenovorans*, *Desulfonatronum lacustre*, *Desulfonatronum thiodismutans* и *Desulfonatronum cooperativum*. Целью данной работы было выделение и исследование свойств новой алкалофильной СВБ из содового озера Южного Забайкалья.

Из ила высокоминерализованного озера Сульфатное была выделена анаэробная грамположительная СВБ штамм Су-2. Клетки изолята представляли собой подвижные одиночные вибрионы размером 3.0-3.2×0.4-0.45 мкм с одним полярным жгутиком, часто образующие короткие цепочки - спирали. Методами окрашивания споры выявлены не были.

Оптимальными условиями для роста были температура 27-28°C, pH 9,2–9,4 и концентрация NaCl 2%. Клетки были способны расти в широком диапазоне температур (20-40°C), pH (8,0-11,0) и солености (5-100г/л). Организм облигатно зависел от NaCl, что отличало его от известных представителей алкалофильных СВБ. Спектр субстратов включал ряд органических кислот (лактат, формиат, пируват) и этанол, которые использовались в качестве доноров электронов для восстановления акцепторов электронов. Сбраживание органических субстратов в отсутствие акцепторов электронов не наблюдалось. Кроме сульфата в качестве акцептора электронов использовался также сульфит. Субстраты окислялись до ацетата и CO₂. Уникальной особенностью изолята являлась способность восстанавливать ионы трехвалентного железа и использовать энергию этого процесса для поддержания роста. Десульфовиридин (630 нм) и сульфитредуктаза P₅₈₂

в клетках штамма Су-2 обнаружены не были. Клетки изолята содержали цитохром *c* с максимумами поглощения при 552, 523 и 420 нм. Сравнение морфологических и физиолого-биохимических свойств выделенного штамма Су-2 с известными на сегодняшний день алкалофильными СВБ показало, что они отличаются по морфологии клеток, спектру утилизируемых субстратов, спектру используемых акцепторов электронов и продуктов метаболизма. Обнаруженные особенности позволяют предположить, что выделенный штамм является представителем нового рода сульфатовосстанавливающих бактерий.

Исследование свойств жидкой и кристаллической воды
Нестеренко Алексей Михайлович

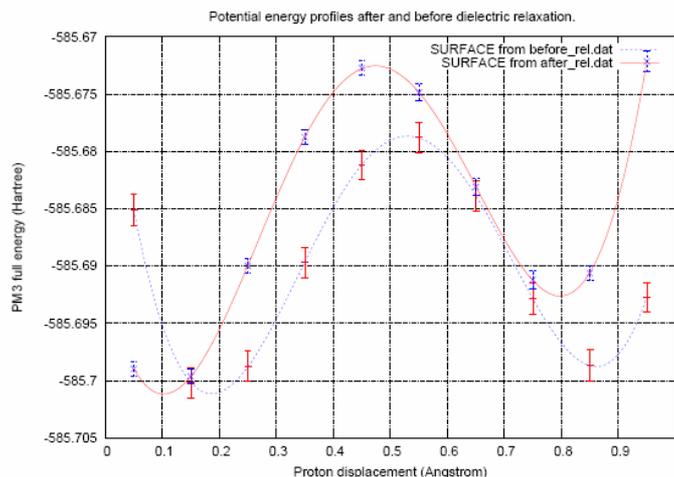
студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: comcon1@mail.ru

Изучение свойств воды в биологических системах является актуальной задачей. Значение воды в фундаментальных биологических процессах обусловлено ее особыми свойствами⁴. Например, коэффициент диффузии протонов ($D \sim 10^{-4} \text{ см}^2/\text{с}$) на порядок и более превосходит коэффициент диффузии других ионов. D_{H^+} во льду примерно на порядок выше, чем в жидкой воде и растет с уменьшением температуры. Такое поведение D_{H^+} , объясняется теорией переноса заряда, которая применима, когда время оседлой жизни превышает время диэлектрической релаксации.

Информацию об энергии связи полярона можно получить, исследуя профили потенциальной энергии протона вдоль водородной связи. На рисунке изображены такие профили до и после релаксации окружения, полученные с помощью пакета PC-GAMESS 7.0^{1,3} и авторской программы ICEMAKER на структуре льда 1h. Асимметрия энергетических уровней после релаксации (энергия связи полярона) составила 3.2 кКал/моль, что согласуется с оценками, приведенными в работе².



Вопреки предположению, что эффективный радиус релаксации во льду превышает таковой в воде, диэлектрическая релаксация во льду ограничивается небольшим ($\sim 5^\circ$) поворотом молекул первой гидратной оболочки.

Если в столь структурированной системе, как лед, диэлектрическая релаксация вокруг протона ограничивается первой гидратной оболочкой, то, возможно, в коллоидных растворах, которыми представлена цитоплазма и примембранное пространство клетки, ситуация сходна. Учитывая этот факт, можно вплотную подойти к вопросу о скорости переноса протона в биосистемах.

**Некоторые особенности выживания при высоких температурах
покоящихся форм *Artemia salina* L.
Николаева Ю.Г., Сыроешкин А. В.**

Государственный океанографический институт Росгидромета,
лаборатория прикладной гидрохимии и аналитической химии, Москва,
Россия

juliana50@yandex.ru, antonvs@mail33.com

Важной приспособительной реакцией низших ракообразных к изменяющимся физико-химическим факторам среды обитания является их способность откладывать прочные яйца, переносящие высыхание и воздействие высоких температур. Известно, что сухие цисты ракообразных при нагревании до $+103^\circ\text{C}$ в течение часа сохраняют

жизнеспособность. Недавно нами было показано, что лиофильное высушивание, замораживание и нагревание яиц *A. salina* приводит к появлению двух компонент спада амплитуд спинового эха, отличающихся на порядок по временам спин-спиновой релаксации протонов, увеличению концентрации парамагнитных ионов и уменьшению концентрации свободных радикалов.

Для объяснения термохимических механизмов выживания яиц в природных условиях исследовали кинетику нагревания биомассы живых и мертвых цист *A. salina*. Гистолого-морфологических изменений в препаратах живых и мертвых цист не обнаружено. Навески (350 г) с живыми и мертвыми цистами выдерживали при комнатной температуре и влажности 150 часов для достижения равновесной сорбции паров обеими образцами. Далее подвергали их нагреву в термостатируемой воздушной камере при 120 °С. «Время полувыживания» цист составляло 90±15 мин., что соответствует, при выбранных условиях эксперимента, разнице температур между термостатом и биомассой $\Delta T = 80 \pm 10$ К. Установлено, что при идентичных условиях (разница в температуре биомассы цист и температуре воздушной среды, конструкции емкости для цист, идентичности массы) скорость нагревания живых цист меньше, чем скорость нагревания мертвых. Это приводит к установлению стационарного различия в температуре живых и мертвых цист: живые оказываются «холоднее» мертвых на 20-30 °С. Возможным агентом сохранения жизнеспособности цист является белок теплового шока α -кристаллин, количество которого в цистах *A. salina* составляет 15%.

Функциональная экспрессия в *Escherichia coli* нового модулятора Ca^{2+} каналов Р-типа

Никольский Антон Сергеевич

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Потенциал-зависимые Ca^{2+} каналы характерны для всех электровозбудимых клеток. Множество биологических функций, в которых принимают участие Ca^{2+} каналы определяет разнообразие их типов, отличных по ряду свойств. В настоящее время строение и физиологическая роль многих Ca^{2+} каналов остаются невыясненными. Ранее из яда паука *Lycosa* sp. был получен пептид Lsp-1, являющийся эффективным модулятором Ca^{2+} каналов Р-типа. Целью работы

являлось проведение функциональной экспрессии Lsp-1 в бактериальной системе.

Получен штамм *E. coli*, несущий плазмиду со вставкой, кодирующей целевой продукт в составе химерного белка с тиоредоксином, содержащего в своем составе последовательность, которая обеспечивает возможность селективного выделения с помощью аффинной хроматографии, и сайт для селективного расщепления энтерокиназой. Регуляторные области гена данного белка позволяют вести контролируруемую экспрессию с использованием изопропил- β -D-тиогалактопиранозиды в качестве индуктора.

В ходе работы подобраны оптимальные условия экспрессии гена гибридного белка (температура, концентрация индуктора, время экспрессии). Оптимизация методики получения целевого продукта (процедуры очистки гибридного белка, условий ферментативного гидролиза и выделения рекомбинантного Lsp-1) позволила осуществить препаративную наработку пептида, выход которого составил 2 мг с 1 л бактериальной культуры. По данным N-концевого секвенирования, масс-спектрометрии и сравнения хроматографических подвижностей, рекомбинантный пептид эквивалентен природному. Биологическая активность рекомбинантного Lsp-1 подтверждена электрофизиологическими методами.

При работе с рекомбинантным пептидом получены новые данные о механизме действия Lsp-1. Нарботанный Lsp-1 будет использован для всесторонних исследований его биологических свойств, изучения функциональных особенностей Ca^{2+} каналов P-типа. Детальный механизм действия Lsp-1 пока неясен, но уже сейчас он может быть предложен как инструмент исследования структуры и функции Ca^{2+} каналов P-типа.

Исследование цитотоксина 2 из яда кобры *Naja oxiana* методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии

Овчинников Игорь Николаевич

Студент

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А.

Овчинникова, Москва, Россия

E-mail: anogafrenopop@gmail.com

Ранее считалось, что цитотоксины взаимодействуют с клеточной мембраной, повреждая её, и таким образом убивают клетки, но было показано, что некоторые цитотоксины способны проникать в клетки и накапливаться в лизосомах; детали механизма действия цитотоксинов не выяснены. В работе изучался механизм взаимодействия цитотоксина 2 из яда кобры *Naja oxiana* с клетками аденокарциномы легкого человека A549 методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии (ЛСКМ).

Цитотоксин был конъюгирован с флуоресцентной меткой - тетраметилпроламином. Показано, что конъюгат обладает токсичностью, сравнимой с исходным белком. Используя селективные флуоресцентные зонды, методом ЛСКМ установлено, что цитотоксин 2 проникает в клетки и накапливается преимущественно в лизосомах.

Использована экстракция холестерина из плазматической мембраны с помощью метил- β -циклодекстрина для проверки участия кавеолярного транспорта в интернализации цитотоксина 2. Холестерин важен для образования и стабильности кавеол, и его удаление из плазматической мембраны вызывает их исчезновение. Показано, что метил- β -циклодекстрин слабо влияет на клеточный транспорт цитотоксина 2.

Катионные амфифильные соединения (например, хлорпромазин) влияют на эндоцитоз, нарушая возврат клатрина и адаптерного AP2-белка на мембрану и задерживая их в поздних эндосомах. Показано, что хлорпромазин ингибирует интернализацию цитотоксина 2. Сделан вывод, что основным механизмом интернализации цитотоксина 2 является клатрин-опосредованный эндоцитоз. Обнаружено, что воздействие цитотоксина на клетку в субтоксических дозах в течение 5-6 ч приводит к увеличению в цитоплазме числа липидных капель, ответственных за хранение нейтральных липидов и стероидных эфиров. Ведется изучение механизма данного эффекта.

Влияние гептапептида семакс на выживаемость перитонеальных макрофагов мышей при окислительном стрессе

Одгаева Айса Владимировна

аспирантка

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: a_odgaeva@mail.ru

Препарат семакс используется в клинической практике при лечении интеллектуально-мнестических расстройств, астенических состояний, а также при профилактике и лечении постнаркозных мнестических нарушений. Однако, клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе нейропротекторного действия гептапептида, еще не достаточно ясны.

Целью нашей работы явилось исследование действия семакса на выживаемость перитонеальных макрофагов в условиях окислительного стресса, индуцированного кратковременной инкубацией клеток с H_2O_2 .

Эксперименты проводили на перитонеальных макрофагах беспородных мышей-самцов. Исследуемые клетки получали вымыванием из брюшной полости только что забитых животных забуференным раствором Хенкса из расчета 2 мл на мышшь. Концентрацию клеток в полученной суспензии доводили этим же раствором до 10^6 клеток в 1 мл. Небольшие объемы суспензии клеток наносили на покровные стекла, инкубировали 45 минут во влажной камере, а затем промывали раствором Хенкса для удаления неприкрепившихся клеток.

Окислительный стресс индуцировали с помощью H_2O_2 (3%-й водный раствор), доведенным до необходимых конечных концентраций забуференным раствором Хенкса (рН=7,2). Далее покровные стекла перемещали в буферный раствор. Семакс добавляли в виде водных растворов. Клетки с поврежденной плазматической мембраной выявляли с помощью одновременной окраски бромистым этидием (5 мкг/мл) и флуоресцеиндиацетатом (5 мкг/мл) ("Serva", Германия). Измерения проводили на люминесцентном микроскопе марки ЛЮМАМ-ИЗ, оснащенный фотометрической насадкой с набором интерференционных светофильтров. Поврежденные клетки выявляли, визуально оценивая размеры клеток и интенсивность их окрашивания каждым красителем. Для определения процентного содержания клеток с поврежденной плазматической мембраной производился анализ нескольких полей на каждом покровном стекле (всего не менее 400 клеток).

Как показали проведенные эксперименты, однократное внесение семакса (10 мкг/мл) в среду культивирования сразу после инкубации перитонеальных макрофагов с H₂O₂ приводило к достоверному ($p < 0.05$) снижению относительного содержания поврежденных клеток примерно на 30%. Полученные данные позволяют предположить, что препарат семакс повышает устойчивость мембран перитонеальных макрофагов во время окислительного стресса.

**Особенности флоры северо-западной оконечности хребта Аракмезр
Омарова С.О.**

Ст. преподаватель, к.б.н.

Дагестанский государственный университет, биологический факультет
Satat_77@mail.ru

Исследована локальная территория внутреннегорного Дагестана (550-1200 м н. у. м.) на примере северо-западной оконечности хребта Аракмезр, расположенного на правом берегу р. Андийского Койсу. Собранные 155 видов сосудистых растений относятся к 43 семействам, среди которых преобладают *Fabaceae* (16,5%), *Asteraceae* (11,4), *Lamiaceae* (10,1), *Boraginaceae*, *Rosaceae* и *Caryophyllaceae* (по 5,7), *Campanulaceae* и *Rubiaceae* (по 3,2). Представители являются растениями скал и каменистых склонов (40,3%), столько же лесных (39,5), несколько меньше луговых (18,2) и степных (13,8) видов.

Характерно проявление вертикальной поясности, что позволяет разделить местность на три высотных пояса. В поясе антропогенного влияния (с высоты 550 м н. у. м.) произрастает 31 вид, в том числе и теплолюбивые интродуцированные древесные виды (*Armeniaca vulgaris*, *Cotinus coggigria*, *Diospyros lotus*, *Persica vulgaris*). Растительность носит мезофильный оттенок. Единично встречаются ксерофильные эндемики *Amberboa glauca*, *Matthiola daghestanica*, *Salsola daghestanica*. Нагорно-ксерофитный пояс, берет начало от 600 м. над ур. м. Сосредоточено здесь 52 вида. Особенностью этого пояса является сильная разреженность и ксероморфность покрова из-за аридности и крутизны склонов и преобладание в видовом составе травянистых многолетников. Обычны здесь многие дагестанские эндемики - *Alyssum daghestanicum*, *Jurinea ruprechtii*, *Hedysarum daghestanicum*, *Limoniopsis owerinii*, *Salvia canescens*, *Scabiosa gumbetica* и др. У видов растений, встречающихся в этой зоне, имеется ряд приспособлений для перенесения жары и холода – мощно развитая стержневая корневая система, сильная опушенность надземных вегетативных органов,

метаморфозы центральной жилки листовой пластинки в колючки, выработка эфирных масел и др.

В лесном поясе (850-950м над ур. моря) фиксировано 72 вида. Видовое разнообразие этой зоны отличается от предыдущей. Обильность растительного покрова здесь почти в два раза выше, заметно возрастает высота травяного покрова, растительность носит ярко выраженный мезофильный оттенок. Лесообразующими породами являются *Betula litwinowii* Doluch., *B. pendula* Roth и *Pinus kochiana* Klotzsch ex C. Koch. В подлеске встречаются *Juniperus oblonga* Bieb., *Rosa* sp.

Локализация сателлитной ДНК *Mus musculus* на хромосомах представителей подсемейства мышевидных грызунов Murinae
Остромышенский Дмитрий Игоревич¹, Кузнецова Инна Сергеевна²
¹студент; ²к.б.н.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, биолого-почвенный факультет; Институт цитологии РАН, Зоологический институт РАН.

necroforus@gmail.com

У домашней мыши *Mus musculus* известны минорный (МиСат) и мажорный (МаСат) сателлиты. МиСат состоит из мономеров в 120 пн и находится в центромерном (СЕН) районе. Мономер МаСат в 234 нп картирован в перичентромерных (периСЕН) районах. Поле тандемных повторов МаСат отделяет единственное плечо телоцентрических хромосом *Mus musculus* от поля МиСат. Фрагменты сатДНК MS3 и MS4 были выделены из очищенной фракции ДНК хромоцентров и охарактеризованы сравнительно недавно. В отличие от МаСат и МиСат, нуклеотидные последовательности которых в основном состоят из АТ пар, новые последовательности являются GC богатыми и располагаются в СЕН и периСЕН районе соответственно.

Целью работы было определение локализации и видоспецифичности последовательностей сатДНК *M. musculus* (MS3, MS4, МаСат, МиСат) методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) на ядрах и хромосомах костного мозга представителей различных видов подсемейства Murinae: *M. spicilegus*, *Apodemus agrarius*, *Sylvaemus uralensis* и *S. flavicollis*, *M. musculus* (лабораторная мышь и синантропная домашняя мышь).

Расположение последовательностей сатДНК у домашней мыши полностью совпадает с таковым у лабораторной мыши. Распределение последовательностей на хромосомах *M. spicilegus* схоже с таковым у

лабораторной мыши. Однако ни один из зондов (MS3, MS4, MaCat, MiCat) не обнаружен на Y хромосоме. В отличие от лабораторной домашней мыши у представителей *M. spicilegus* MS3 и MaCat располагается не только в SEN-участке, но и по плечам некоторых хромосом, а последовательности сатДНК у *A. agrarius*, *S. flavicollis* *S. uralensis* определяются в центромерных районах только 3-4 хромосом. Это может говорить о хромосомоспецифичном варианте используемых проб для этих видов и связано с разным уровнем дивергенции между этими формами.

Результаты сравнительного анализа сатДНК *M. spicilegus* и *M. musculus* свидетельствуют об их генетической близости, что соответствует данным об отсутствии постзиготической репродуктивной изоляции между синантропными и несинантропными формами домашних мышей. Различия между видами не противоречат представлению об их таксономической обособленности. Виды *A. agrarius* и *S. flavicollis*, будучи систематически и генетически удаленными как от представителей рода *Mus* и друг от друга демонстрируют присутствие сатДНК домашних мышей, что укладывается в представления традиционной систематики о родстве этих таксонов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (05-04-49828-а).

Морфобиологическая характеристика кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walb.) (Salmonidae, Salmoniformes) реки Коль (западная Камчатка).

Пашин Владислав Михайлович

инженер кафедры ихтиологии

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: PashinV@yandex.ru

Тихоокеанские лососи рода *Oncorhynchus* являются проходными, моноциклическими рыбами с коротким жизненным циклом и четко выраженным хомингом. Одним из представителей этого рода является кижуч (*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)). Ареал кижуча значительно уже, чем для массовых видов рода *Oncorhynchus* – кеты и горбуши. Он распространен главным образом в северной части Тихого океана и встречается как на азиатском, так и на северо-американском континентах. Является одним из ценнейших объектов хозяйственной деятельности в дальневосточном регионе Российской Федерации.

В современной литературе сведения по кижучу относятся к ограниченному числу водоемов, которые разбросаны по всему ареалу в

Азии (Смирнов, 1975; Groot, Margolis, 1991). Для разработки эффективной системы устойчивого природопользования необходима биоинформация по виду в пределах ареала для создания полномасштабной базы данных. Один из таких водоёмов, по которому на сегодняшний день отсутствует какая-либо биоинформация по кижучу, является река Коль на западном побережье Камчатки. Эта река включена в проект ПРООН «Сохранение биоразнообразия лососевых рыб Камчатки», одной из задач которого является изучение, мониторинг, сохранение уникальных лососевых экосистем и неистощительное использование биоресурсов полуострова.

Исследованы сроки анадромной миграции производителей, определён размерный, возрастной и половой состав половозрелых рыб, изучены их морфологические особенности, изучена биология молоди кижуча в бассейне р. Коль. Целью работы было определить внутривидовую структуру, а так же провести сравнительный анализ кижуча из р. Коль с популяциями из других участков ареала.

По срокам анадромной миграции, размерно-весовым показателям, плодовитости, кижуч р. Коль представляет собой единую группировку, не подразделённую на сезонные расы или иные морфо-экологические формы, принадлежащую к так называемой «летней» расе вида (Зорбиди, 1990). Молодь кижуча чрезвычайно широко распространена в водной системе р. Коль и использует для обитания и нагула, в первую очередь, небольшие и мельчайшие водоёмы придаточной системы (боковые протоки, орто- и парафлювиальные родники, притоки, речные затоны и др.), включая эфемерные водоёмы. Эти водоёмы имеют первостепенное значение для жизни молоди и формирования поколений, тогда как основное русло реки используется молодь кижуча в значительно меньшей степени – главным образом, для миграций. По признакам внешней морфологии кижуч реки Коль представляет собой однородную группировку, морфологически обособленную от популяций других рек.

Токоферол как возможный эндогенный посредник в активации цитохрома P450 1A1 под действием холода.

Перепечаева М.Л.

Аспирант 3 года обучения

ГУ НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАН, г.

Новосибирск, Россия

E-mail: perepechayeva@mail.ru

Цитохром P450 1A1 (CYP1A1) является ферментом монооксигеназной системы, катализирующим детоксикацию и токсификацию ряда проканцерогенов. Единственным известным способом активации CYP1A1 является путь сигнальной трансдукции, зависимый от арилгидрокарбонowego рецептора (AhR). Ген *AhR* входит в семейство bHLH/PAS генов ядерных рецепторов, кодирующих факторы транскрипции. Основными лигандами AhR являются ксенобиотики с определенными физико-химическими и структурными особенностями: гидрофобные, планарные молекулы с полициклической структурой (полициклические ароматические углеводороды, ариламины). Существуют данные о том, что некоторые эндогенные вещества (билирубин, триптофан) также могут быть лигандами AhR.

Индукция CYP1A1 в печени при воздействии на организм холода была показана нами ранее, но вопрос о том, какое эндогенное вещество может быть посредником в индукции CYP1A1 под действием холода, остается открытым. Предположили участие в этом процессе α -токоферола, который осуществляет транскрипционную активацию CYP1A1.

Работа была выполнена на самцах крыс Вистар. Животных содержали при температуре +4°C в течение 5 и 10 суток, контрольных при комнатной температуре. В микросомах печени крыс исследовали активность CYP1A1 по скорости окисления высокоспецифичного субстрата 7-этоксирезорифина. Количество токоферола в печени определяли флуориметрическим методом. Показано, что содержание токоферола в микросомах печени под действием холода на 5 и 10 сутки возрастало по сравнению с контролем в 6 и 16 раз, соответственно ($p < 0,01$). Изменение активности CYP1A1 коррелировало с уровнем токоферола; коэффициент корреляции $r = 0,63$ ($p < 0,05$).

Полученные данные позволяют говорить о токофероле как возможном посреднике в процессе индукции CYP1A1 под действием холода. Возможно, он является одним из лигандов, активирующих AhR, внося свой вклад в индукцию CYP1A1 в печени при воздействии холода.

Интродукционное изучение прострелов в условиях Центральной Якутии

Петрова Кюннаэ Модестовна

студентка

Якутский государственный университет им. М.КЕ. Амосова, Якутск,
Россия

E-mail: borisova@sitc.ru

В городах Центральной Якутии наиболее бесцветочный период – весна, поэтому большое значение имеет привлечение в озеленение рано цветущих растений. К числу весенних декоративных растений относится прострел (*Pulsatilla*) из сем. *Ranunculaceae*. В Якутии произрастают 5 видов - *Pulsatilla multifida*, *P. flavescens*, *P. davurica*, *P. ajanensis*, *P. turczaninovii*. Два последних вида – редкие.

В Якутии прострелы природной флоры интродуцируются с 1980-х гг. Интродукционное испытание местных видов показало перспективность выращивания в условиях культуры *P. turczaninovii*, *P. multifida*, *P. flavescens*, *P. davurica*; они ежегодно цветут, формируют полноценные плоды, возобновляются семенным путем. Благодаря самосеву численность этих видов в коллекциях значительно увеличивается. Способность прострелов к самовозобновлению обуславливает также длительность их выращивания в питомниках.

Для ассортимента раннецветущих декоративных растений в 2003 г. были привлечены кавказские, европейские, дальневосточные и сибирские представители рода. Семена получены из ботанических учреждений России и собраны в экспедиционных поездках по республике. Посев семян проводился весной и летом. Раннее прорастание характерно для сибирских степных видов *P. flavescens*, *P. multifida* (14 сутки после посева). У европейских видов *P. vulgaris*, *P. pratense*, *P. grandis* всходы появляются через месяц после посева. Самым длительным периодом прорастания отличаются дальневосточный (*P. setua*) и восточно-сибирский (*P. davurica*) виды – 39 и 47 дней, соответственно. Южно-сахалинские образцы *P. pratense* всходят раньше образцов из гг. Ставрополь и Тарту. Центральная якутские образцы *P. turczaninovii* прорастают на 12 дней раньше восточная якутских, произрастающих в горных районах. В одни и те же сроки прорастают семена *P. davurica* как якутских, так и южно-сахалинских образцов. У сибирских видов настоящие листья появляются через 19 (*P. turczaninovii*), 30 (*P. flavescens*) дней после посева, европейских и кавказских видов - через 50-70 дней. Виды *P. turczaninovii*, *P. flavescens*,

P. multifida, *P. davurica* заканчивают вегетацию в сентябре, остальные уходят в зиму с зелеными листьями.

Цитологический анализ токсического действия гербицида трефлана на клетки развивающегося корешка ярового ячменя *Hordeum vulgare L.*

Полещук Нина Андреевна

сотрудник

НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: poleschuckna@rambler.ru

Изучение реакций растительных клеток на различные стрессовые факторы представляет большой интерес для понимания адаптивных механизмов защиты растений. В работе проведено цитологическое изучение действия гербицида трефлана (действующее вещество – трифлуралин, подгруппа динитроанилинов) на клетки прорастающих корешков ярового ячменя (*Hordeum vulgare L.*). Из данных литературы известно, что трефлан вызывает деполимеризацию микротрубочек растений, однако влияние его на разные ткани развивающегося растения изучено недостаточно. Семена ячменя проращивали в присутствии трефлана в течение пяти дней. Морфометрический анализ показал, что трефлан в концентрации 0.5-1 мкг/мл не влияет на всхожесть семян, но замедляет скорость роста. Визуально корешки, пророщенные в присутствии трефлана, выглядят короткими и толстыми, по сравнению с контрольными, что является типичным признаком воздействия динитроанилинов. Для исследования общей морфологии корешка использовались полутонкие срезы. В зоне активного деления обнаружены крупные многоядерные клетки с дефективным фрагмопластом. Выше этой зоны обнаружены крупные клетки неправильной формы и корневые волоски. Важно отметить, что в этом районе нормально развивающегося корешка корневые волоски никогда не выявляются, т.е. речь идет о нарушении программы дифференциации клеток. Ультраструктурный анализ показал, что многие клетки в зоне дифференциации на 4-5-й день развития имеют плотную, конденсированную цитоплазму. Выявлялись также единичные клетки с сильно выраженным плазмоллизом. Такая морфологическая картина типична для процесса программируемой клеточной гибели у растений. Таким образом, одной из мишеней действия трефлана являются микротрубочки интерфазного и митотического цитоскелета. В

результате в делящихся клетках происходит блокирование процесса нормального формирования фрагмопласта, а в дифференцирующихся – изменяется программа развития и индуцируется апоптоз.

**Объемы внутренних органов и пределы миниатюризации
насекомых**

Полилов А.А.

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
apolilov@mail.ru

Известно, что изменение объема пропорционально кубу линейных размеров, поэтому изменение относительного объема органов при миниатюризации представляет особый интерес для понимания факторов лимитирующих размеры тела насекомых.

Исследовано внутреннее строение мельчайших свободно живущих насекомых – представителей семейства Ptiliidae (Coleoptera). Были проведены трехмерные компьютерные реконструкции и проанализированы относительные объемы органов для перекрылок разного размера.

Полученные количественные и качественные данные свидетельствуют о том, что наиболее сильной трансформации вследствие уменьшения размеров тела подвержены метаболические системы (пищеварительная, кровеносная и трахейная). Преобразования в метаболических системах можно объяснить повышением эффективности диффузии и возрастающей ролью капиллярных сил при столь мелких размерах. Наименьшее количество изменений наблюдаются в нервной и половой системах, эти же системы демонстрируют повышение относительного объема. Это говорит о невозможности их принципиальных перестроек, что лимитирует дальнейшее уменьшение размеров тела. Относительный объем скелета, а соответственно и его масса, также могут лимитировать дальнейшее уменьшение размеров, но, учитывая сложную зависимость массы скелета от размеров тела (при увеличении размеров относительная масса тоже возрастает), этот вопрос требует дальнейшего детального изучения.

Таким образом, данные, полученные при изучении относительных объемов органов, подтверждают и дополняют гипотезы выдвинутые нами ранее. Основными факторами, лимитирующими уменьшение размеров тела у насекомых, является размер нервной системы,

ограниченный количеством и размером нейронов, и размер яйца, а, соответственно, и половой системы, а так же, возможно, масса скелета.

Видеоатлас актов груминга и структура груминговых последовательностей у монгольской песчанки (*Meriones unguiculatus*).

Попов Александр Сергеевич

студент

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова,
Москва, Россия.

Попов Владимир Сергеевич

аспирант

Институт Проблем Экологии и Эволюции РАН

Груминг представляет собой стереотипное поведение (Spruijt et al., 1992). Он часто используется как модель при изучении структуры поведения, связи разных форм активности друг с другом, физиологических механизмов и развития поведения (Fentress, 1988). Однако описания груминга, используемые в разных работах, часто трудно сопоставить между собой, особенно когда речь идет об определении формы груминга и измерении длительности отдельных составляющих его актов. С помощью традиционных этограмм, создаваемых на базе рисунков и вербальных описаний, нельзя передать ни формы, ни динамики движений. Между тем современные возможности научной публикации позволяют включать как web приложения видеоклипы, гораздо точнее демонстрирующие выделяемые исследователем элементы. Это побудило нас составить видеоатлас актов груминга монгольской песчанки, одного наиболее популярных в лабораторных исследованиях грызунов, и провести структурный анализ и инвентаризацию форм этого поведения. Мы составили видеоатлас актов груминга для 12-ти выделенных нами форм. Мы выделили следующие акты груминга: отряхивание передних лап (n=8), вылизывание передних лап (n=247), вылизывание задних лап (n=89), быстрое умывание (n=286), умывание носа (n=294), умывание лица (n=60), умывание головы (n=31), чистка боков (n=45), чистка аногенитальной и вентральной областей тела (n=205), чистка хвоста (n=17), чесание задней лапой (n=287), встряхивание (n=15). Эти акты груминга могут встречаться поодиночке или образуют последовательности, включающие один или нескольких типов.

Среди последовательностей груминга выделяется группа наиболее продолжительных чисток, включающих вылизывание передних лап и последующий груминг различных частей тела с цефалокаудальной направленностью действий. Такие последовательности составляют 33,8% от всех последовательностей (n=71). Именно эта форма груминговых последовательностей чаще всего используется при исследованиях (Spruijt et al., 1992). Из других последовательностей в отдельную группу выделяются повторяющиеся чесания задними лапами и вылизывание задних лап, иногда включающие в себя аногенитальный груминг и чистку хвоста (21,1%). Еще одну группу (23,9%) составляют последовательности, включающие повторяющиеся акты вылизывания передних лап, умывания носа и аногенитального груминга. Иногда в такие последовательности входит вылизывание боков. Остальные последовательности (21,2%) состоят из разных актов груминга и не обнаруживают заметного сходства.

Пентилентетразоловый киндлинг у крыс: сезонная зависимость и анализ морфологических изменений гиппокампа

Попова Мария Сергеевна, Павлова Татьяна Васильевна

студент, аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
Москва, Россия

E-mail: maxych@rambler.ru

Киндлинг представляет собой состояние прогрессивно развивающейся судорожной готовности (СГ) при хронической стимуляции подпороговыми дозами раздражителя (электрического, аудиогенного, химического). Одним из наиболее популярных подходов к исследованию механизмов развития СГ является киндлинг, осуществляемый хроническим введением пентилентетразола (РТЗ, метразола). Хроническое введение РТЗ в подпороговой дозе вызывает у животного развитие выраженных клонико-тонических судорог. Киндлинг сопровождается как длительными пластическими, в частности транссинаптическими изменениями в мозге, так и структурными изменениями в отделах мозга, связанными с судорожной активностью, в частности гибелью нейронов в гиппокампе (Павлова и др., 2005). Показано, что порог возникновения клонических судорог у мышей существенно возрастает в декабре-апреле по сравнению с

летними и осенними месяцами (Loescher, Fiedler, 1996). В связи с этим целью работы было сравнительное исследование влияния сезона на развитие киндлинга и связанные с этим структурные изменения в гиппокампе крыс.

Выработку киндлинга проводили путем в/б введения PTZ в субконвульсивной дозе (40 мг/кг) каждые 48 ч. Конвульсивные проявления судорожной активности (КА) оценивали по шкале Racine (1972). Для развития киндлинга осуществляли 13 инъекций PTZ (контрольные крысы получали аналогичное число инъекций изотонического раствора). СГ считали выработанной, если животное стабильно демонстрировало клонические судороги в течение трех последних инъекций. Выработку киндлинга осуществляли в сентябре (контрольный месяц), декабре, январе, феврале. Введение первой подпороговой дозы PTZ либо не вызывало существенных изменений поведения крыс, за исключением кратковременных периодов замирания, либо приводило к появлению признаков КА, которые выражались в лицевых автоматизмах, кивках головы, треморе вибрисс (стадия 1). Увеличение числа инъекций PTZ приводило к постепенному нарастанию КА: появлению миоклонизмов, увеличению их числа, миоклоническим судорогам передних конечностей, совмещенным с подъемом на задние лапы. Анализ кривых развития киндлинга показал существенное отличие выработки, проведенной в декабре, от экспериментов, проведенных как ранней осенью (в сентябре), так и в другие зимние месяцы (январь-февраль): более высокий уровень судорожной реакции на стандартную дозу PTZ и небольшой прирост КА. В «контрольный» сезон проведения киндлинга (сентябрь) число нейронов в поле СА1 гиппокампа достоверно снижалось (на 12%, $p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными, тогда как в поле СА3 не наблюдалось существенного изменения числа клеток. В декабре киндлинг не вызвал достоверных изменений числа нейронов ни в поле СА1, ни в поле СА3. Если киндлинг вырабатывали в январе или феврале, достоверное снижение числа нейронов выявляли в поле СА3 гиппокампа (на 28% и 25%, соответственно, $p < 0,05$), но не в поле СА1. Таким образом, наблюдались существенные сезонные различия в развитии как СГ у крыс, так и чувствительности разных отделов гиппокампа к патологическому воздействию.

Орнитофауна Иркутско-Черемховской агломерации
Преловский Владимир Александрович
аспирант, младший научный сотрудник
институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН. Иркутск, Россия
amadeo81@mail.ru

Авифауна городов Сибирского региона менее изучена, чем в Европейской части страны и до сих пор является предметом особого внимания. Быстрый рост городов и появление многочисленных дачных поселков вокруг них приводит к существенному изменению и сокращению естественных ландшафтов и изменению в них структуры животного населения. Более того, энергично расширяя свои границы и зону хозяйственного использования земель, города все плотнее смыкаются между собой, образуя городские агломерации, растянувшиеся до нескольких сотен километров. Таким примером может являться Иркутско-Черемховская агломерация, включающая в себя города Шелехов, Иркутск, Ангарск, Усолье-Сибирское, Черемхово, Свирск с общим населением более одного миллиона человек и протяженностью более 200 км. Сливаясь воедино, города образуют обширную хозяйственно-промышленную территорию, расположенную между Байкалом и Братским водохранилищем, лежащую на пути сезонных миграций птиц. Бурное развитие промышленности городов области расположенных вдоль Восточно-Сибирской железной дороги с начала XX века привело к трансформации сложных природных комплексов, а также полному или частичному исчезновению некоторых видов и мест массового гнездования птиц. В результате орнитологических наблюдений и их дополнения из опубликованных материалов выявлено обитание более 280 видов, которые относятся к 17 отрядам и 45 семействам. По характеру пребывания отмечено гнездящихся видов птиц – 170, пролетных - 170, зимующих - 88 и залетных – 22. Гнездование 2-х видов требует уточнения. На территории агломерации встречается 48 видов птиц включенные в Красные книги МСОП, Азии, Российской Федерации и Иркутской области и около 30 видов, нуждающихся в особом внимании. Орнитофауна агломерации в настоящее время формируется как за счет видов, внедряющихся с соседних территорий, так и видов, возвращающихся на некогда утраченные местообитания. Современная орнитофауна района существенно отличается от той, что населяла регион в начале XX века. В основном это связано с появлением новых

биотопов, а также с расширением границ ареалов некоторых видов. Разнообразие условий определило разнообразие птиц агломерации.

Рифампицин - регулятор клеточного цикла и индуктор апоптоза в эпителиальных клетках культуры СПЭВ

Прокопенко Анна Викторовна, Ерохина Мария Владиславовна

студентка 5 курса

МГУ им. Ломоносова М.В., Биологический факультет,

Кафедра клеточной биологии и гистологии, г. Москва

Рифампицин – полусинтетический антибиотик, применяемый при лечении различных вирусных и бактериальных заболеваний. При лечении туберкулёза является препаратом 1-го ряда, способным воздействовать как на внеклеточные, так и внутриклеточные формы микобактерий туберкулёза. Мишенью для рифампицина является ДНК-зависимая-РНК-полимераза бактерий. Данные о мишенях для рифампицина в соматических клетках противоречивы. Мало изучен вопрос о влиянии рифампицина на пролиферацию и жизнеспособность соматических клеток. Ранее было показано, что рифампицин токсичен для клеток разного происхождения. Это ставит вопрос о механизмах гибели соматических клеток.

Данная работа проводилась на эпителиальных клетках культуры СПЭВ. В качестве экспериментальной дозы использовалась доза рифампицина, вызывающая гибель 50% клеток в течение 3-х суток. Методами световой и электронной микроскопии показано, что рифампицин вызывает изменения в распределении митохондрий и конденсацию хроматина в районе ядерной оболочки, характерные для апоптотических клеток. На более поздних стадиях происходит разрушение клеток с образованием апоптотических телец.

Апоптотической гибели предшествует пролиферативная активность клеток, которая сменяется митотическим блоком. Методом проточной флуориметрии показано, что митотический блок происходит на стадии G1 клеточного цикла. Стадия митотического блока сопровождается увеличением распластанности клеток, ядерно-цитоплазматического соотношения, разрушением межклеточных контактов, увеличением подвижности клеток и изменением в состоянии элементов цитоскелета (стабилизацией сети микротрубочек и появлением стресс-фибрилл актина). Митотический блок является необратимым и, в дальнейшем, ведёт к апоптотической гибели клеток. Белок p53 является ключевым белком, регулирующим клеточную пролиферацию, морфологию и

гибель клеток путём апоптоза. Методом иммуноцитохимии нами показано, что фазы пролиферативной активности, митотического блока и апоптоза коррелируют с разным распределением белка p53 в ядре и цитоплазме. Предполагается, что p53 может как усиливать пролиферацию клеток при воздействии рифампицином, так и вызывать митотический блок на стадии G1 клеточного цикла и запускать каскад реакций, приводящих клетки к апоптотической гибели. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 05-04-49248.

Содержание белков в крови хронических наркоманов в состоянии абстиненции

Рабаданова А.И., Султанова Ш.Д.

ст. лаборант кафедры физиологии человека и животных, студентка 5-го курса

Дагестанский госуниверситет, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, г. Махачкала, Россия

ashty06@mail.ru

Целью нашей работы явилось изучение изменения белкового состава сыворотки крови хронических наркоманов в условиях развития у них абстинентного синдрома, как мощного стрессового фактора.

Важным показателем состояния крови хронических наркоманов является понижение содержания гемоглобина, которое составило у них 87 г/л, тогда как в норме оно составляет 120 г/л. Учитывая то, что с гемоглобином связана важнейшая функция переноса кислорода к клеткам и тканям и выноса из них углекислого газа, можно предположить, что понижение его содержания в крови приводит к нарушению обеспеченности клеток кислородом и к понижению интенсивности окислительных процессов в организме хронических наркоманов.

Наиболее характерной особенностью в показателях сыворотки крови у хронических наркоманов в состоянии абстиненции, является понижение содержания общего белка, которое составило 54 г/л, тогда как у здорового человека содержание общего белка в крови составляет 72 г/л. При исследовании фракционного состава белков сыворотки крови были обнаружены изменения разного характера с общей тенденцией к повышению содержания подфракции глобулинов и сохранению постоянства содержания альбуминовой фракции.

В условиях возникновения у хронических наркоманов абстинентного синдрома белки сыворотки крови претерпевают значительные

изменения в процентном соотношении фракций, в то время как характер электрофоретической подвижности не изменяется.

Так, в состоянии абстиненции у наркоманов происходят изменения в глобулиновой фракции, тогда как содержание альбуминов сходно с их концентрацией в крови здорового человека и составляет 53%. Система обеспечения организма иммунитетом представлена гамма-глобулинами. Сывороточные иммуноглобулины входят в состав фракции гамма-глобулинов сыворотки крови. В состоянии абстиненции наблюдается повышение данного показателя относительно контроля в 1,6 раз (16% при абстиненции, 10% - в норме), что может свидетельствовать о повышении защитных свойств организма наркомана при абстинентном синдроме. В состоянии абстиненции у больных наблюдалось также повышение и остальных белков: α 1-глобулина более, чем в 2 раза (4,5%, против 2,0% - в норме), α 2-глобулина – в 1,8 раз (9,0% против 5,0% - в норме), в 2 раза повышается содержание β -глобулинов (20% против 9,0% - в норме).

К анализу осеннего пролета птиц в предгорьях Абаканского хребта и его роли в оценке эпидемиологической обстановки

Радченко Александра Николаевна

аспирант кафедры охотничьего ресурсосведения и заповедного дела
КрасГУ

Красноярский государственный университет, г. Красноярск, Россия

E-mail: fenix-bird1@yandex.ru

Изучение динамики численности различных видов птиц весьма важно в орнитологии, поскольку многолетние исследования – ключ к пониманию экологических процессов в жизни птиц. Эти данные помогают анализировать влияние деятельности человека на авифауну и т.д. Современная эпидемиологическая обстановка в стране требует уточнения направлений и интенсивности пролета на участках с высокой концентрацией птиц и людей. К потенциальным переносчикам вируса птичьего гриппа в настоящий момент относят не только водоплавающих (утиных), околородных (куликов, цапель, чаек), но и экологически связанных с ними птиц (ласточек-береговушек, скворцов), а так же синантропных птиц (врановых).

Многолетняя динамика и направления осеннего пролета птиц прослежена в 1986 и 2003 гг. на территории Бейского района Хакасии, в долине р. Абакана. В юго-западной части республики сосредоточены многочисленные населенные пункты с развитым приусадебным

хозяйством. Визуально-оптические наблюдения проведены по методике А.П. Савченко (1996).

В осенний период зарегистрировано 123 вида, 37 семейств 14 отрядов; из которых более 20 видов могут быть переносчиками вируса. Среди доминирующих представителей отр. Passeriformes, фоновыми были сем. Fringillidae, Paridae, Hirundinidae, Emberizidae и Corvidae. Семейства Anatidae и **Charadrii** составили по 1,0%. Осенняя картина миграции имела ярко выраженный волнообразный характер. Генеральным направлением осеннего пролета для большинства мигрантов в 1986 и 2003 гг. было юго-западное ($A=220^0-260^0$), что соответствует как направлению русла реки, так и сезонному курсу. Долина р. Абакан на фоне окружающего степного ландшафта представляет собой интразональный участок, покрытый растительностью, служащий направляющей линией для древесно-кустарниковых видов.

В 1986 г. пролет в генеральном направлении в сентябре проходил в 1,6-1,8 раз интенсивнее (1137,6 особи/км*час, было зарегистрировано 56,6% от общего числа отмеченных птиц), чем в августе (723,8) и первой половине октября (645,3), когда перемещалось чуть более 20% птиц. Миграция в 2003 г. была довольно сходной: в августе зарегистрировано 21,0% птиц от числа учтенных при средней интенсивности пролета 184,6 особи/км*час. Основные перемещения (71,9% при активности 1069,6 особей/км*час) проходили в сентябре.

Характер миграций исследуемого района, находящегося у юго-западной границы Центральной Сибири, имеет много общего с пролетом птиц в Западной Сибири и Казахстане. Об этом свидетельствуют сходство видового состава и общее направление перемещений. Анализ состава мигрантов показал сравнительно небольшое участие водоплавающих и околоводных птиц. С высокой интенсивностью летели врановые (10,0 – 12,4), скворцы (1,3 - 3,6), ласточки (3,4 - 10,5), то есть синантропные птицы, а так же дрозды (3,5 – 8,3), которые во время кочевков и пролета нередко концентрируются в лесопарках и садах городов и других крупных населенных пунктов. Кроме того, ласточки и скворцы формируют большие предотлетные скопления по берегам степных водоемов Хакасии и безусловно могут вовлекаться в эпизоотический процесс.

Режим присутствия – отсутствия на лежбище кормящих самок сивуча (*Eumetopias jubatus*, Schreber, 1776) на Курильских островах как индикатор локальных кормовых условий.

Риваненкова Мария Леонидовна

Аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: rivanenkova@bk.ru

Одна из наиболее вероятных причин сокращения численности сивуча, произошедшего за последние тридцать лет – подрыв кормовой базы в результате промышленного рыболовства и изменений экосистемы северной части Тихого океана. Анализ режима присутствия на лежбище лактирующих самок предлагается как релевантный метод оценки состояния кормовой базы ушастых тюленей (Trites, Donnelly, 2003). При недостатке пищи самки совершают более продолжительные уходы в море на охоту и проводят на берегу меньше времени.

Наблюдения за 30 кормящими самками с рождения до двухмесячного возраста детенышей проводились в мае-июле 2004 года на островах «Скала Долгая» и «Каменные Ловушки» (48°33', 153°51'). Результаты показали, что в абсолютном большинстве случаев самки уходят в море на одну ночь. Большинство самок присутствовало на лежбище ежедневно. Вероятность нахождения самки на лежбище в дневное время, рассчитанная как отношение количества случаев зафиксированного присутствия самки к числу зафиксированных случаев их отсутствия, в среднем составляет 95%. Уходы самок в море на сутки и более регистрировались редко. Вероятность отсутствия самки на лежбище в течение дня составляла менее 5%, а отсутствия самки сроком более одних суток – менее 2,5%. Пик уходов приходился примерно на полночь, поскольку в 23.00 на лежбище еще остается не менее 65% самок. Пик возвращений самок также приходился на темное время суток, поскольку к 6.00 большинство самок уже находилось на лежбище. Вероятнее всего, основная масса самок возвращается на берег между 4.00 и 6.00 часами. Таким образом, на о. Каменные Ловушки продолжительность кормления самок в море в большинстве случаев составляла менее 10 часов.

Сравнение с полученными ранее данными по Юго-Восточному лежбищу о. Медного (Командорские о-ва, 54°29', 168°7'), показывает, что режимы присутствия самок на обоих лежбищах в целом сходны, хотя на Медном самки отсутствовали несколько дольше – в среднем около 14 часов (Алтухов и др., в печати). На лежбищах у побережий

Аляски самки уходят в море на больший срок – 19.5-24.9 часов (Trites, Donnelly, 2003).

Мы предполагаем, что такие короткие фуражировочные прогулки самок на о. Медный и о. Каменные Ловушки могут объясняться особенностями сложившихся вокруг них океанографических условий. Иссеченный рельеф морского дна и течения ведут к тому, что первичная продукция вокруг таких островов достаточно высока, в то время как окружающие их глубокие океанические воды обычно низкопродуктивны. В этом случае вокруг островов концентрируются стаи кальмаров и косяки рыбы, благодаря чему сивучи с высокой вероятностью находят достаточное количество корма недалеко от лежбища. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в период размножения сивучи способны найти достаточное количество пищи. Предположение о том, что животные испытывают пищевой стресс, не подтверждается.

**Анатомия и морфология плодов представителей семейства
Sarraceniaceae Dumort.**

Римская Ольга Владимировна

студент

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия.

e-mail: Sarracenia_06@mail.ru

Гинецей изученных нами представителей *Sarraceniaceae* представлен 5 сросшимися карпеллами; плоды *Sarraceniaceae* обычно описываются как многосеменные локулицидные коробочки.

Нами впервые было изучено анатомическое строение перикарпия 5 видов рода *Sarracenia*: *S. rubra*, *S. purpurea*, *S. minor*, *S. x hybrida*, *S. hedgei* и *Darlingtonia californica*.

Плоды *Sarracenia* пентамерные, шарообразных очертаний, сухие, деревянистые, вскрывающиеся. Диаметр от 1,5 см. до 2,3 см. и высотой от 1-1,5 до 2,5 см. толщина стенки около 1,5-2 мм. Поверхность имеет характерную бугристую структуру, заметную невооруженным взглядом.

В ходе работы установлен общий план строения перикарпия у рода *Sarracenia*. Экзокарпий в зрелых плодах практически полностью слущивается и представлен одним слоем мелких клеток, среди которых встречаются длинные волоски. Под экзокарпием дифференцируется однослойная гиподерма (исключая *S. hedgei*) мезокарпального

происхождения, стенки клеток которой часто одревесневшие. Мезокарпий многослойный (11-22 слоя), сложенный из крупных клеток неправильной формы. Стенки клеток утолщены, иногда одревесневшие у нескольких периферических слоев. В этой зоне расположены некрупные проводящие пучки в 1-2 круга. Иногда в толще мезокарпия встречаются отдельные клетки с гранулированным содержимым. Эндокарпий представлен 4-7 слоями клеток. Слои имеют характерную топографию: периферические представлены удлиненными в радиальном направлении клетками неправильной формы, внутренний – вытянутыми в тангентальном направлении клетками. Стенки клеток сильно утолщены и почти всегда одревесневают (исключая *S. hedgei*). В клетках всех зон перикарпия содержатся дубильные вещества, обилие и локализация которых варьируют у разных видов.

Плод *D. californica* Торг. пентамерный, овально-вытянутой формы, сухой, кожистый, вскрывающийся. Поверхность плода гладкая, диаметр 1,5-2 см., высота около 3,5 см. Для этого вида характерно наличие перикарпия, из небольшого числа слоев клеток. Экзокарпий представлен 3-4 слоями клеток с утолщенными и сильно одревесневшими стенками. Мезокарпий сложен 4-5 слоями клеток с неутолщенными стенками. Встречаются проводящие пучки разных размеров. Эндокарпий представлен одним слоем клеток, вытянутых в тангентальном направлении, с неодревесневшими стенками.

Нами были выявлены серьезные различия в анатомии и морфологии плодов изученных родов *Sarraceniaceae*: общее число слоев клеток перикарпия, строение эндо- и экзокарпия, морфология плода. Возможно, эти данные в совокупности с другими признаками являются свидетельством большей эволюционной продвинутости *D. californica* по сравнению с *Sarracenia*.

Протекторное действие инкапсулированного пептида - агониста рецептора тромбина (PAR1-AP) в модели язвы желудка у крыс
Русанова Анна Викторовна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: tuchka26@yandex.ru

Тромбин - сериновая протеиназа системы гемостаза, стимулирует рецепторы, активируемые протеиназами (PAR), регулирует процессы воспаления, пролиферацию клеток и созревание тканей. Целью

настоящей работы было исследование действия пептида агониста PAR1 (PAR1-AP), иммобилизованного в биodeградебельные микросферы сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA), на процесс заживления ацетатной язвы желудка у крыс. Иммобилизацию PAR1-AP в биodeградируемые PLGA микросферы проводили методом двойного эмульгирования и анализировали кинетику освобождения пептида. Динамику заживления язв исследовали морфометрическим методом на 3-й и 7-й дни эксперимента. В опытной группе животным в желудок вводили микросферы с PAR1-AP, а в двух контрольных группах - физиологический раствор или сферы, не содержащие пептид. На 3 день эксперимента в опытной группе количество фибробластов было более чем в 10 раз выше, а нейтрофилов – в 5-6 раз ниже, чем в обеих контрольных группах животных ($p < 0.05$). Воспалительная реакция и отек были менее выражены по сравнению с контрольными животными. На 7-й день эксперимента в опытной группе наблюдали достоверное снижение (по сравнению с контрольными группами) количества нейтрофилов и макрофагов и повышение количества фибробластов (до 50%). Таким образом, PAR1-AP, постепенно освобождаемый из PLGA микросфер в желудок, вызывает сокращение фазы воспаления и сдвигает фазу пролиферации на более ранние сроки, что приводит к ускорению заживления экспериментальных язв желудка у крыс.

Выявление последовательностей ДНК, связывающих комплекс триторакса в эмбрионах *Drosophila melanogaster* и в S2 клетках *in vivo*.

Ряховский Алексей Алексеевич¹, Арифов Александр Олегович²

¹Аспирант 2-го г/о основной очной аспирантуры Института Биологии Гена РАН

²Студент 6 курса Московского Физико-Технического Института Институт Биологии Гена РАН, Москва
cytromi@yandex.ru

Установление тканеспецифического распределения активности гомеостических генов инициируется ранними эмбриональными регуляторными факторами. В дальнейшем специфичность развития поддерживается при определяющем участии эпигенетических регуляторов – продуктов генов групп поликомба и триторакса, исходно описанных у дрозофилы. Комплексы этих белков предотвращают изменения транскрипционной программы, характерной для данного типа клеток. Их функционирование осуществляется через

взаимодействие с определенными регуляторными последовательностями ДНК, называемыми PRE/TRE (polycomb/trithorax response elements). На данный момент подробно исследован только TRE гена *Ubx*. Поэтому целью данной работы было обнаружение новых TRE для проведения дальнейших исследований.

На первом этапе была проведена работа по модификации метода X-ChIP анализа, позволяющего лишь проверять обогащение известных последовательностей ДНК, для создания библиотеки с возможностью дальнейшего выявления ранее не описанных TRE. Было показано, что предварительная очистка на колонке с конканавалином А позволяет значительно увеличить долю TRE последовательностей в полученной библиотеке. Полученная с использованием приведённых данных библиотека последовательностей, обогащенная TRE, была клонирована в pBluKSM вектор и трансформирована в *E. coli*. Выявление обогащённых в библиотеке последовательностей проводилось гибридизационным анализом. Отобранные таким образом клоны были сиквенированы и картированы на геноме дрозофилы. Примененный метод позволил идентифицировать предположительные TRE, регулирующие следующие гены: *Var-H1* (или *Var-H2*), *Noc*, *Knrl*, *Klg* и несколько других генов. Перечисленные гены являются важными факторами дифференцировки тканей и(или) транскрипционными факторами. Также было показано, что экспрессия большинства из них находится под регуляцией системы поликомба/триторокса, что является косвенным фактом, подтверждающим истинность последовательностей. После был проведён биоинформатический анализ, показавший обогащение сайтами связывания белков PHO, Zeste и GAF, характерное для PRE, в непосредственной близости от выявленных районов, что подтверждает гипотезу о колокализации TRE и PRE элементов. Также была предсказана высокая вероятность нахождения промоторов в обнаруженных районах или в пределах 200 пар оснований от них, что соответствует последним данным о принципиальной важности транскрипции не кодирующей РНК в TRE.

Об изучении чистых культур ксилотрофных базидиомицетов

Савельева Дарья Николаевна

студентка 4-го курса

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,

биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: dandylion_ds@rambler.ru

Целью работы было исследование морфолого-культуральных свойств ксилотрофных базидиомицетов для дальнейшего использования полученных данных как дополнительных таксономических признаков при идентификации грибов. С июня по октябрь 2005 г. в лесах Москвы и Московской области были собраны плодовые тела 39 видов ксилотрофных базидиомицетов, относящиеся к классу *Hymenomycetes*, 12 порядкам, 18 семействам. В ходе работы было исследовано 17 видов (22 штамма) ксилотрофных грибов, наиболее распространенных в зоне смешанных лесов. Первоначально чистые культуры были выделены из кернов гнилей или из ткани плодовых тел в пробирки на скошенное агаризованное сусло в течение 24 ч. после сбора материала. Пробирки инкубировали при температуре +24°C. Для исследования морфолого-культуральных свойств блоки агаризованной среды с мицелием с помощью пересевной иглы из пробирки переносили в центр чашки Петри на агаризованное сусло. Культуры высевали на чашки Петри в 3 повторностях; чашки хранили в темноте при +20°C. Просмотр и описание культур производили через каждые 7 дней в течение 6 недель. Чистые культуры исследованы визуально и с помощью микроскопа Amplival. Для сравнения скоростей роста различных видов и штаммов были построены графики скорости радиального роста, а также использовался ростовой коэффициент, рассчитанный по формуле: $PK = dhg / t$, где d – диаметр колонии (мм); h – высота колонии (мм); g – плотность колонии (по трехбалльной системе: 1 – редкая, 2 – средняя, 3 – плотная); t – возраст колонии (сут). По результатам изученные грибы классифицировали на несколько групп с четко различающимися признаками, на основании которых предполагается построение ключей для определения грибов с использованием данных о свойствах их чистых культур.

**Клетки металлоустойчивых бактерий как индикаторы загрязнения
водных объектов тяжелыми металлами**

Самойлова Зоя Юрьевна

студент

Пермский государственный технический университет, Пермь, Россия

E-mail: samzu@mail.ru

Одним из показателей техногенного воздействия на окружающую среду служит содержание в ней тяжелых металлов. Современные методы анализа позволяют определять ионы тяжелых металлов на уровне фоновых концентраций. Однако реализация подобных методов требует дорогостоящего оборудования и квалифицированного персонала. Кроме того, при анализе большого числа проб возникают значительные временные затраты. В связи с этим существует потребность в экспрессных методах определения тяжелых металлов в водных объектах. Перспективны методы контроля загрязнения водных объектов тяжелыми металлами на основе биотехнологических подходов.

Целью настоящего исследования явилось практическое обоснование использования клеток металлоустойчивых бактерий для создания биосенсора тяжелых металлов.

Штаммы металлоустойчивых бактерий были выделены из иловых осадков р. Данилиха. Установлена их способность к росту в присутствии Cd^{2+} (40 мг/л), Cu^{2+} (100 мг/л), Ni^{2+} (100 мг/л) и Zn^{2+} (400 мг/л). Предварительная идентификация микробиологическими методами показала принадлежность выделенных культур к родам *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и *Sarcina*.

Экспериментально показана способность интактных клеток штамма *Alcaligenes* sp. изменять pH среды под действием кратковременного металлического стресса в диапазоне концентраций тяжелых металлов (Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+}) 100,00-0,0001 мг/л. Установлено, что исследуемый штамм при содержании металла 1,0-0,0001 мг/л проявляет наибольшую чувствительность к ионам Cd^{2+} и Ni^{2+} . После иммобилизации в 2%-ный агаровый гель клетки штамма *Alcaligenes* sp. также проявляли повышенную чувствительность к ионам Cu^{2+} и Ni^{2+} в диапазоне концентраций 1,0-0,0001 мг/л.

В обоих случаях обнаружено, что реакция на тяжелые металлы не всегда сопровождалась подкислением среды. Добавление к клеткам Cd^{2+} (20 мг/л) приводило к повышению pH среды по сравнению с контролем на 1,5-2,0%. По-видимому, это связано с различием в механизмах отклика на стрессы, вызванных разными ионами тяжелых металлов.

Результаты проведенной работы свидетельствуют о возможности использования клеток металлоустойчивых бактерий в качестве рецепторного элемента биосенсора тяжелых металлов, работающего по принципу потенциометра. В настоящее время изучаются способы стабилизации отклика микробных клеток на кратковременный металлический стресс. Проводится исследование механизмов взаимодействия клеток с ионами тяжелых металлов.

Рост пшеницы в условиях засоления

*Санников Сергей Анатольевич, *Чаплыгина Ирина Александровна*

*Студент, *сотрудник*

*ФГОУ ВПО «Красноярский государственный аграрный университет»,
Красноярск, Россия*

E-mail: ledum_palustre@mail.ru

Целью работы являлось исследование влияния различных типов засоления почв на рост проростков яровой пшеницы.

Для лабораторной оценки роста яровой пшеницы использовали рулонный метод. В качестве тестирующего признака смотрели депрессию накопления биомассы и величины проростков, выращенных на солевом растворе по сравнению с проростками пресного контроля. Семена замачивали водой в течение 3 суток при 22°C в термостате. Проросшие зерна переносили в рулоны из фильтровальной бумаги и помещали в вегетационные сосуды с дистиллированной водой (контроль) и с растворами хлорида, сульфата, гидрокарбоната натрия и хлорида кальция с концентрацией 1,68% (опыт). Спустя 7 суток рулоны разворачивали и проводили измерения линейных размеров и сырой массы побегов и корней. Повторностями служили 30 зерен в каждом рулоне – для изучения линейных размеров, средние значения по рулону – для изучения накопления биомассы.

Наибольшее отрицательное влияние на рост корней и побегов пшеницы оказал раствор гидрокарбоната натрия. Длина корней пшеницы, выращенной на растворе гидрокарбоната натрия, составила 22,7% от контроля. В остальных вариантах опыта длина корней в 1,5 - 2,5 раза больше, чем в варианте с использованием раствора гидрокарбоната натрия. Длина побегов в варианте с использованием гидрокарбоната натрия в 2,3 раза меньше контроля и в 1,5 раза остальных вариантов опыта. В ряду растворов солей – хлорид натрия, хлорид кальция, сульфат натрия – прослеживается уменьшение степени их негативного воздействия на рост корней пшеницы. В варианте с использованием

хлорида натрия длина корней составила 32,7%, хлорида кальция - 46,2%, сульфата натрия - 51,5% по сравнению с пресным контролем. Однако, длина побега в этих вариантах опыта меньше контроля в среднем в полтора раза.

В растворе хлорида кальция отмечается уменьшение массы проростков в 2 раза, по сравнению с контролем. При этом, масса побегов уменьшается в 1,8 раза, в то время как масса корней в 2,6 раз. В растворах хлорида и гидрокарбоната натрия напротив, наибольшее снижение массы по сравнению с контролем отмечено для побегов. Так в растворе хлорида натрия масса корней уменьшается в 1,7 раз, побега - в 1,9 раз, в растворе гидрокарбоната натрия масса корней и побегов меньше контроля в 1,4 и 1,6 раз соответственно. В растворе сульфата натрия масса надземной части и корней более равномерно и в среднем составляет 66,5% от контроля.

Таким образом, засоление отрицательно сказывается на жизнедеятельности растений пшеницы. В большей степени от засоления страдает корневая система, на что указывает большая депрессия длины корней по сравнению с длиной побега. Засоление гидрокарбонатом натрия оказывает наиболее негативное действие на рост пшеницы. Масса и длина проростков реагируют на засоление неодинаково.

Воздействие электромагнитного излучения ЛЭП-35 кВ на численность азотфиксирующих микроорганизмов почвы

Сарокваши Оксана Юрьевна

Аспирант

Самарский Государственный университет, Самара, Россия

E-mail: ksushke@yandex.ru

В работе исследовали влияние электромагнитных излучений в районе прохождения ЛЭП-35 кВ вблизи поселка Безенчук Самарской области на общую численность азотфиксирующих микроорганизмов почвы.

К настоящему времени накоплен значительный экспериментальный материал по воздействию слабых электромагнитных излучений (ЭМИ) на биологические системы различных уровней организации. В последние десятилетия выяснилось, что слабые электромагнитные излучения играют существенную роль в функционировании живой природы на различных уровнях ее организации.

Эволюция биологического мира шла при определенном фоне ЭМИ. Эволюционная адаптация выработала у всех организмов способность реагировать на изменения естественного геомагнитного поля (ГМП) и

на сверхслабые воздействия низкочастотного и высокочастотного электромагнитного поля. Можно предположить, что во время пребывания живого организма под воздействием электромагнитного поля, в частности в зоне излучения высоковольтной ЛЭП, у него будут срабатывать адаптивные механизмы уже при незначительных изменениях индукции внешнего ЭМИ. Механизмы воздействия ЭМИ на биологические системы не изучены и носят только предположительный характер.

В работе азотфиксирующие микроорганизмы почвы рассматриваются в качестве индикаторов воздействия электромагнитных полей. В исследовании были изучены пробы почвы с полей озимой пшеницы в период всхода. Электромагнитное воздействие изучали на примере ЭМИ ЛЭП-35 кВ в районе села Переполовенка города Безенчук Самарской области. Исследуемые пробы были расположены от источника излучения соответственно на 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 и 100 метров. Контрольные экземпляры брали на расстоянии 1500 метров от ЛЭП. В каждой точке удаления относительно ЛЭП исследовали 5 образцов почвы.

Наши исследования свидетельствуют об изменении численности азотфиксирующих микроорганизмов под влиянием электромагнитных излучений ЛЭП. Непосредственно в 0 точке (под ЛЭП) численность микроорганизмов повышается незначительно. При удалении от ЛЭП на 10-20 метров численность микроорганизмов снижается. При большем удалении от ЛЭП на 30 метров численность возрастает. Максимальное увеличение численности микроорганизмов наблюдается на расстоянии 50 метров от ЛЭП. Изменение общей численности микроорганизмов относительно удаления ЛЭП имеет волнообразную зависимость.

Биоэкологическая оценка зеленых насаждений города

Сарсатская Анна Сергеевна

Аспирант

Кемеровский государственный университет, биологический факультет,

Кемерово, Россия

sarsatskaya@mail.ru

Адаптивные системы (АС) зеленых насаждений играют огромную роль как для самих растений, защищая их от гибели вследствие заболеваний, так и в создании оптимальных условий атмосферы, пригодных для существования других организмов, в том числе жителей промышленных центров. Одной из АС является газоаккумулирующая функция

растений, конечным итогом которой является утилизация химических веществ, переводом их в растворимое состояние.

Целью настоящей работы является биоэкологическая оценка древесных растений, анализ их жизненного состояния (жизненности) и эффективности аккумуляции серосодержащих поллютантов из атмосферы.

Работа была проведена в 2000 – 2005 г.г. в г. Кемерово. Объектами исследования послужили зеленые насаждения. Исследованы 8 видов растений лиственных и хвойных пород. Анализ данных выявил, что зеленые насаждения города Кемерово относятся к различным уровням жизненности, что может свидетельствовать о гетерогенности городских популяций. Согласно полученным результатам жизненное состояние лиственных и хвойных пород составила 70 % и 55 % соответственно. По результатам ранжирования зеленых насаждений города, только 5-и из 25-и исследованных посадок был присвоен первый (высший) класс виталитета. Жизненный потенциал зеленых насаждений вдоль транспортных магистралей на 25 – 30 % ниже, по сравнению с жизненным потенциалом в скверах и бульварах.

Исследованиями, проведенными в настоящей работе, было установлено, что по мере развития листовой пластинки содержание серы и других зольных элементов в ней увеличивается. Зольность в течение вегетации увеличивается у лиственных пород на 25 – 60 %, у хвойных – на 15 – 30 %.

Выявлены отличия в накоплении сульфатной серы от вида растений. В ассимиляционном аппарате лиственных растений накапливается в 2 - 3,5 раза больше сульфатной серы, чем у хвойных. Максимальное содержание сульфатной серы у тополя бальзамического, а минимальное – у сосны обыкновенной. За время вегетации происходит накопление сульфатной серы, максимальное содержание отмечено в конце вегетационного периода. Например, содержание сульфатной серы в ассимиляционном аппарате березы повислой за период вегетации в среднем составляет от 0,5 до 2,1 % от массы сухого вещества.

По результатам статистической обработки получены достоверные ($p=0,034$) корреляции жизненного состояния и содержания сульфатной серы в листьях растений. Чем выше содержание сульфатной серы, тем ниже жизненный потенциал растений.

**Изучение численности микроорганизмов воды и донных отложений
р. Нуры в районе города Темиртау
Сарсенова А.С., Кулжанова К.А.
Аспирант, младший научный сотрудник
Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан
E-mail: sarainur@rambler.ru**

Любая водная экосистема, находясь в равновесии с факторами внешней среды, имеет сложную систему подвижных биологических связей, которые нарушаются под воздействием антропогенных факторов. Прежде всего, загрязнение водных экосистем отражается на видовом составе водных сообществ и соотношении численности слагающих их видов. К наиболее токсичным загрязнителям водной среды относятся тяжелые металлы, в том числе ртуть.

В Казахстане одной из острых экологических проблем является загрязнение реки Нуры ртутью. По грубым оценкам Е.П. Янина, за время функционирования ацетальдегидного производства в составе сточных вод завода «Карбид» было сброшено в реку Нуру более 500 тонн ртути. По нашим данным содержание ртути в воде и отложениях реки превышает ПДК в несколько раз.

Целью работы было изучение численности основных физиологических и функциональных групп микроорганизмов в загрязненной ртутью воде и донных отложениях реки Нуры. Пробы отбирались в трех точках – в районе сброса сточных вод, на дамбе пруда накопителя и после очистных сооружений.

Микробиологический анализ воды показал низкое содержание актиномицетов и мицелиальных грибов, численность актиномицетов колебалась в пределах от 0 до 6,7, а мицелиальных грибов от 0 до 10 клеток. Общая микробная численность в воде колебалась в пределах от $9,23 \times 10^1$ до $1,24 \times 10^3$ кл/мл воды. Численность спорообразующих микроорганизмов составила $1,67 - 2,67 \times 10^1$ кл/л, численность дрожжей колебалась в пределах $8,00 \times 10^1 - 7,73 \times 10^2$ кл/л. Численность олиготрофных микроорганизмов - в пределах от $8,50 \times 10^2$ до $1,12 \times 10^4$. Наименьшее количество микроорганизмов обнаружено в воде очистного сооружения. Актиномицеты в данной точке не обнаружены. Численность остальных групп микроорганизмов, за исключением олиготрофов, на 1-2 порядка ниже по сравнению с другими точками отбора проб воды.

По сравнению с водой донные отложения имеют наиболее высокие показатели численности микроорганизмов. Общая микробная

численность в донных отложениях составляет $1,12-1,24 \times 10^6$, численность спорообразующих микроорганизмов составляет $6,33 \times 10^3 - 1,23 \times 10^4$ кл/г. Численность дрожжей составляет $8,23 \times 10^4 - 2,46 \times 10^5$ кл/г. Численность олиготрофных микроорганизмов составляет от 10^5 до 10^6 кл/г.

Таким образом, обнаружена высокая численность микроорганизмов в донных отложениях, превышающая численность микроорганизмов в воде на 3-5 порядка. Низкая численность микроорганизмов обнаружена в воде после очистных сооружений. Наиболее чувствительными к ртутному загрязнению оказались актиномицеты.

Использование технологии fusion protein для повышения экспрессии растворимых рекомбинантных белков в цитоплазме

Escherichia coli

Сафьянов Анатолий Анатольевич

Студент

Кемеровский государственный университет, биологический факультет,

Кемерово, Россия

forestbend@mail.ru

Одной из современных стратегий получения значительного количества растворимого и биологически активного рекомбинантного белка в бактериальной цитоплазме является технология fusion protein. Fusion protein представляет собой единую нуклеотидную систему в векторе, состоящую из генов целевого белка и белка-партнера, соединенных полилинкером. При экспрессии такого химерного гена образуется целевой белок с С - или N - концевым белком-партнером. Партнером может служить белок, хорошо растворимый в бактериальной цитоплазме, например, NusA.

В типичных экспериментах содержание химерных белков с чистотой 90 – 95% составляет 9 mg/L media для trxA-scFv, 25 mg/L - NusA- Ter3Ag и 90 mg/L - MBP-scFv. В экспериментах по экспрессии генов рекомбинантных белков без применения технологии fusion protein в растворимой фракции содержание целевого белка составляет до 1 mg/L media. Методом ELISA было показано, что все экспрессированные очищенные антитела связывались только со специфическими антигенами, что свидетельствует о корректной укладке полипептидной цепи и правильном формировании S-S связей в белках.

Повышение растворимости целевого белка, связанного с белком-партнером объясняется наличием у белка-партнера шаперонин-

зависимой активности. Имеются данные, что белки, экспрессируемые с GST в качестве белка-партнера, накапливаются в цитоплазме *Escherichia coli* в нерастворимой форме.

Денситометрическим сканированием GelCode Blue-stained SDS/PAGE определяется процентное соотношение растворимой фракции целевого белка к общему содержанию химерного белка в клеточном экстракте. Содержание растворимого химерного белка в типичных экспериментах составляет 21% для trxA-scFv, 40% - MBP-scFv, 59% - DsbC-scFv и DsbG-scFv, 63% - CBD-scFv и 90% - DsbG-scFv с ко-экспрессией DsbC. Результаты, полученные методом GelCode Blue-stained SDS/PAGE, свидетельствуют в пользу того, что белок-партнер усиливает продукцию растворимой фракции целевого белка. Как видно из приведенных данных, растворимая фракция целевого белка преобладает в ряде случаев над нерастворимой (содержание химерного белка в тельцах включения).

О проблеме учета бездомных собак в г. Петрозаводске

Седова Наталия Анатольевна

Аспирант II года

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

E-mail: natkas12@yandex.ru

Необходимость изучения городских бездомных собак объясняется их непосредственной близостью и частыми контактами с человеком. Благодаря многочисленным экологическим и поведенческим особенностям эти собаки адаптировались к специфической и неоднородной городской среде.

Данные собирали с целью определения численности бездомных собак на территории города и изучения их территориального и социального поведения.

Исследования проводили в г. Петрозаводске в 2002-2005 гг. На территории города площадью 34 км² без пригородов и лесопарковых зон были выделены 9 контрольных участков, на которых путем трехкратного обхода учитывали, описывали и фотографировали всех встреченных бездомных собак. Ввиду практической невозможности тотального подсчета всех одиночных и стайных бездомных собак в городе, использовали экстраполированные на всю площадь города данные о количестве животных, полученные на ограниченных контрольных участках. Особенности территориального поведения бездомных собак изучали путем визуальных наблюдений. Фиксировали

границы участков, занятых стаями, маршруты их передвижения по участкам, местонахождение логова, места лежек, а также области перекрытия участков соседних стай.

При изучении использования территории города мы обнаружили довольно заметную неоднородность в территориальном распределении бездомных животных. Центры участков обитания бездомных собак в жилой застройке тяготеют к границам кварталов, особенно при сочетании обильных источников корма (рынки, мусорные баки) и малодоступных для людей убежищ (пустыри, заросли, гаражи).

Для районов с преобладающей частной жилой застройкой характерны одиночные животные или небольшие группы (2-3 особи). Для районов с промышленной застройкой характерны группы собак, одиночных особей мало. Размеры групп от 2 до 12, но может быть и больше. Основным источником корма – подкормка работниками предприятий, свалки и помойки на окраинах города.

Численность собак в городе по данным учета 2005 года составляет 2012 особей, средняя плотность – 59,2 экз./км². Среди учтенных животных 27,5 % составляют самки, 72,5 % - самцы. Н.П. Наумов (1969) писал, что резкое преобладание самцов характерно для популяции с высокой плотностью.

Дэниэлз (Daniels,1983) отмечал, что высокая плотность популяции собак может быть обусловлена ежегодным пополнением доступной пищи и укрытий. В нашем случае это играет определенную роль, но также следует отметить постоянный приток бездомных собак из числа брошенных хозяевами животных.

К изучению клеточных механизмов формирования эмбриоида в андроклинном каллусе пшеницы

Сельдимирова Оксана Александровна

старший научный сотрудник

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

E-mail: kruglova@anrb.ru

Андроклиния – феномен образования в культуре *in vitro* растения-регенеранта из морфогенетически компетентной клетки пыльника через этап формирования эмбриоида или каллуса. Один из путей морфогенеза *in vitro* микроспоры по спорофитной программе связан с формированием каллуса, который в данном случае предложено называть андроклинным. В свою очередь, клетки андроклинного каллуса способны развиваться по различным путям морфогенеза *in vitro*

и один из них – эмбриогенез, состоящий в формировании зародышеподобной структуры – эмбриоида. Однако не до конца установлено, одна инициальная клетка или группа инициальных клеток каллуса дает начало эмбриоиду и каковы клеточные механизмы формирования этой структуры. Цель работы состояла в изучении цитогистологических особенностей эмбриогенеза в андроклином каллусе *in vitro*. Объектом исследования послужила линия яровой мягкой пшеницы Фотос. Получение андроклиных каллусов и индукцию в них эмбриогенеза проводили согласно методике культивирования пыльников пшеницы с учетом эмбриологических нюансов. Фиксацию растительного материала и приготовление постоянных микротомных препаратов проводили по. Выявлено, что эмбриогенез начинается с заложения на поверхности каллуса комплекса меристематических клеток. Деятельность клеток такого комплекса приводит к образованию апекса побега. В это же время в ниже расположенных клетках каллуса наблюдается дифференциация прокамбиального тяжа и закладывается щиток. Через 1-2 сут после их появления происходит образование инициалей меристемы апекса корня за счет клеток, расположенных в периферических слоях каллуса. Стеблевой и корневой апексы развиваются сопряженно и с самого начала соединены между собой прокамбиальным тяжом, а также связаны со щитком. Далее происходит обособление колеоптиля и заложение зачатков листьев на апексе побега. По мере развития периферические по отношению к эмбриоиду паренхимные клетки каллуса постепенно разрушаются, в эмбриоиде оформляется эпидермальный слой, и эмбриоид полностью обособляется от массы каллусных клеток. Таким образом, согласно полученным данным, эмбриоид в данном случае берет начало от группы инициальных клеток каллуса – как поверхностных, так и периферических. О многоклеточном происхождении эмбриоида свидетельствует и очевидная связь эмбриоида с материнской тканью каллуса на всех этапах развития. Установлено, что сформированный эмбриоид пшеницы имеет все органы, присущие зиготическому зародышу пшеницы, что еще раз свидетельствует о принципиальном сходстве процессов эмбриогенеза в условиях культуры *in vitro* и эмбриогенеза в естественных условиях *in vivo*.

**Изучение иммунохимических свойств N-концевой части
предшественника натрийуретического пептида В (NT-proBNP)**

человека

Семенов Александр Геннадьевич¹, Сеферян Карина Рубеновна²
студент 5 курса¹, сотрудник²

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: alexan.msu@mail.ru

Натрийуретический пептид В (BNP) входит в семейство пептидных гормонов, играющих важную роль в поддержании нормального кровяного давления, постоянного объема жидкости в организме и ее электролитного состава. BNP синтезируется кардиомиоцитами в виде предшественника proBNP, который подвергается протеолизу с образованием двух фрагментов – N-концевого (NT-proBNP) с неясной функцией и активного гормона BNP. При заболеваниях сердечно-сосудистой системы концентрации обеих молекул в крови повышаются, наблюдается корреляция между концентрацией и тяжестью заболевания.

Для количественного определения концентрации NT-proBNP в крови используются антитела с различной эпитопной специфичностью, однако отсутствуют данные о зависимости результатов от эпитопной специфичности использованных антител.

В работе использовали набор моноклональных антител (МАт), специфичных к различным участкам молекулы NT-proBNP. Были определены эпитопы МАт, полученных ранее. Используя МАт с различной специфичностью, было проведено сравнение иммунохимических свойств эндогенного и рекомбинантного NT-proBNP. Показано, что МАт, специфичные к участку молекулы NT-proBNP с 28 по 60 аминокислотные остатки (АК), взаимодействуют с эндогенным пептидом слабее, чем с рекомбинантным. МАт, специфичные к участкам 13-27 АК и 61-76 АК молекулы NT-proBNP, взаимодействуют с обоими типами пептидов. Результаты показывают, что эпитопная специфичность антител важна при создании диагностических систем для определения концентрации NT-proBNP в крови. Оптимальным является использование антител, специфичных к участкам последовательности 13-27 АК и 61-76 АК молекулы NT-proBNP. Участок молекулы эндогенного NT-proBNP 28-60 АК недоступен для взаимодействия с антителами, что, возможно, связано с тем, что NT-proBNP присутствует в крови в комплексе с неизвестным высокомолекулярным соединением, экранирующим данный участок от

взаимодействия с антителами. Это подтверждается результатами гель-фильтрации и иммунохимического окрашивания на нитроцеллюлозной мембране после разделения в ПААГ, полученными для 2 типов пептидов.

Об участии неспецифических модулирующих влияний в регуляции возбудимости и пластичности корковых колонок соматической коры

Сердюк Татьяна Сергеевна

аспирант

Научно-исследовательский институт нейрокибернетики им. А.Б. Когана
Ростовского государственного университета, Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: serta@bk.ru

Решающую роль в механизмах пластичности функционирования нейронных колонок коры играют неспецифические модулирующие системы мозга различной медиаторной принадлежности, в частности, достаточно подробно исследована роль ретикуло-корковых холинергических и адренергических активирующих неспецифических влияний в регуляции функционального состояния мозга и общего уровня возбудимости коры в цикле бодрствование-сон. Данные литературы, а также исследования, проведенные нами ранее, свидетельствуют об участии ретикуло-корковых неспецифических влияний не только в обеспечении возможности развития длительной посттетанической потенциации, но и в ее поддержании, по крайней мере, в течение 1 часа после тетанизации, т.е. в течение первой функциональной фазы длительной потенциации до ее перехода в фазу структурного закрепления. Как удалось выяснить, развитие и поддержание длительной потенциации фокальных ответов в отдельных колонках соматической коры в существенной мере зависит от состояния систем афферентного и возвратного коркового торможения, а также взаимодействия ТПСА и ТПСБ, по-разному регулируемых неспецифическими модулирующими системами. При этом, в зависимости от характера неспецифических влияний, возможно развитие как потенциации фокальных ответов колонок на тестирующую стимуляцию при достаточном тоне ретикулярной формации, так и возникновение локальной посттетанической депрессии или депотенциации ответов при засыпании животного. Особый интерес в изучении механизмов неспецифических влияний на процессы пластичности представляет медленное корковое торможение,

опосредуемое ТПСБ, которое в отличие от ТПСПа радикально меняется при изменении характера ретикуло-корковых влияний в процессе засыпания, что сопровождается замещением тета-активности альфа-веретенами, переходом парной фасилитации в парную депрессию и депотенциацией ранее потенцированных ответов. Мы предполагаем, что активирующий эффект ретикуло-корковых холинергических влияний на пирамидные нейроны и процессы потенциации в корковых колонках могут быть обусловлены торможением активности вставочных тормозных нейронов коры, с растормаживанием активности пирамидных клеток.

Проведенные нами исследования показали, что временной ход парной фасилитации в колонках соматической коры совпадает, судя по литературным данным, со временем развития медленного коркового торможения, обусловленного ГАМК_B рецепторами, и может быть обусловлен активацией низкопороговых потенциал зависимых кальциевых каналов. Замена парной фасилитации на парную депрессию при засыпании крысы и блокаде тета-активности может быть связана, по нашему мнению, с изменением соотношения ТПСПа и ТПСБ в результате снижения холинергических активирующих ретикуло-корковых влияний во сне. Выяснение особенностей этих неспецифических влияний на различные виды коркового торможения может иметь важное значение для понимания механизмов пластичности синаптической передачи в колонках соматической коры крысы.

Изучение генетического контроля и фенотипического проявления фасциации у гороха

Синюшин А.А., Орлов А.В., Мосиевская М.В.

студенты каф. генетики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: asinjushin@mail.ru

Фасциация, как аномальное срастание органов, отмечена у более чем 100 семейств высших растений, что свидетельствует о наличии сходных генетических систем контроля морфогенеза. Проведенное изучение фасциированных мутанта “Штамбовый”, сорта “Rosacrone” и линии “Люпиноид” *Pisum sativum* L. в сравнении с диким типом (сорт Немчиновский) показало, что суть явления фасциации заключается в срастании осевых или иных структур, возникающих в избыточном количестве в результате неконтролируемого увеличения объема

меристемы. Применение сканирующей электронной микроскопии показало, что у фасцированных форм происходит значительное увеличение размеров апикальной меристемы в продольном направлении. Число и положение листьев в узле является функцией от диаметра ингибирующей зоны листового примордия, размеров апикальной меристемы побега и числа проводящих элементов в побеге. Последнее у фасцированных форм также значительно увеличено.

С помощью генетического анализа показано, что в трех изученных линиях фасциация вызвана двумя неаллельными генами, взаимодействующими по типу комплементарности. При скрещивании сорта "Rosastone" с типовой линией J-5 из John Innes Collection (Великобритания) гибриды F₁ фасцированы, что свидетельствует о идентичности генов, вызывающих фасциацию в этих линиях.

С использованием сайт-специфических ДНК-маркеров (CAPS) и сцепления с морфологическим маркером *Le* удалось однозначно локализовать ген, мутация в котором вызывает фасциацию в линии «Штамбовый», в нижней части III группы сцепления. Расстояние между этим геном и *Le* составляет около 19 сМ.

Полученные данные позволяют предположить, что в норме "гены фасциации" поддерживают размер апикальной меристемы в определенных пределах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 04-04-48956) и программы РАН «Ведущие научные школы».

Регуляция адаптивных реакций растений сои элементами минерального питания в условиях загрязнения свинцом.

Ситар О.В., Косян А.М., Таран Н.Ю.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев,
Украина

Spirulina2003@ukr.net

Работа посвящена изучению физиолого-биохимических параметров растений сои в условиях серного питания и возможности регуляции адаптивных реакций серой при токсическом действии свинца с целью улучшения биологической ценности растительной продукции, выращенной в условиях загрязнения среды тяжелыми металлами.

Исследовали развитие адаптивной реакции в условиях негативного влияния ионов свинца и возможность ее регуляции серой. Об интенсивности стресса судили по накоплению продуктов перекисного окисления липидов, активности антиокислительных ферментов, а также

содержанию свободных и белковых тиолов в фотосинтетических тканях. Установлено, что внесение серы в среду обитания способствует образованию неспецифических антистрессовых соединений тиоловой природы и стимулирует развитие адаптивных реакций, за счет увеличения активности как ферментативных, так и неферментативных антиоксидантных систем. Ответная реакция на действие ионов свинца у растений сои, выращенных на питательной среде с добавлением серы, наступает раньше и развивается более продолжительно. Уровень сульфолипидов (СХДГ) у растений, выращенных с внесением серы в питательную среду, увеличивается на 6-й час экспозиции на 41%, что значительно раньше, чем у растений, выращенных на питательной среде без серы. При действии ионов свинца на растения сои максимальное развитие стресса приходится на 6-й час экспозиции, как при выращивании в условиях серного питания, так и без него, за счет увеличения интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ). При этом содержание малонового диальдегида (МДА) увеличилось на 22% при добавлении серы и 14% без внесения серы в среду обитания. Изменения в содержании гликолипидов показаны на 48-й час экспозиции: наблюдалось уменьшение количества моногалактозилдиацилглицерола (МГДГ) на 25% и увеличение содержания СХДГ на 23% у растений, выращенных на питательной среде с внесением серы. При этом у растений, выращенных на питательной среде без серы, содержание СХДГ было на уровне контрольных значений, а количество МГДГ уменьшилось на 36%. Изменения количества гликолипидов у растений, выращенных на питательной среде без внесения серы при пониженном уровне продуктов перекисного окисления липидов на 24-й и 48-й час экспозиции свидетельствуют о деструктивных процессах в мембране, что негативно влияет на интенсивность фотосинтеза. Показано уменьшение содержания хлорофиллов на 48-й час экспозиции у растений, выращенных на питательной среде без внесения серы. Установлено, что внесение серы способствует возрастанию содержания пигментов, увеличению площади ассимиляционного аппарата, повышению интенсивности транспирации. Также при внесении серы перед посевом в семенах сои увеличивается содержание белка на 35%, общей серы на 28% и свободных тиолов на 33% по отношению к контролю.

Комплексы микромицетов, ассоциированные с лишайником
Cetraria islandica
Смирнов Иван Алексеевич
Студент 5 курса
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Москва, Россия
E-mail: ismirnoff@yandex.ru

Предметом изучения ассоциативной симбиологии становятся микроорганизмы, связанные с разнообразными симбиотическими системами. С этой точки зрения интерес вызывают классические примеры симбиотической ассоциации — лишайники. Объектом настоящего исследования был лишайник *C. islandica*. Для изучения комплексов микромицетов, ассоциированных с данным видом лишайника применялась методика аналогичная посеву почвенных комочков. В качестве сред использовались сусло-агар и среда Чапека. Всего изучено более 1300 фрагментов слоевищ. Для подсчета численности микромицетов фрагменты таллома измельчались в ступке, а затем проводился посев из разведений суспензии полученного гомогената таллома на твердую среду Чапека.

Выделены представители 29 родов микромицетов. Преобладающей систематической группой были дейтеромицеты (более 65%), значительную часть составляли аскомицеты и зигомицеты (около 20% и 15%, соответственно). Доминирующими родами были — *Penicillium* и *Trichoderma* (встречаемость более 50%). Чаще встречались следующие виды: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Ulocladium botrytis*, *Gelasinospora calospora*, *Mucor plumbeus*, *Neurospora crassa*, *Penicillium echinulatum*, *P. viridicatum*, *Trichoderma harzianum*, *T. longibrachiatum*, *Trichothecium roseum* (названия приводятся по www.cbs.knaw.nl).

Численность микромицетов в лишайнике была на несколько порядков меньше, чем в подстилке и почве под ними. Возможной причиной этого является фунгицидное или фунгистатическое действие некоторых лишайниковых веществ. В лишайниках несколько выше встречаемость *Trichoderma* spp.. Также чаще представители этого рода отмечены в молодых частях таллома.

**Физико-химические свойства протеиназы *Bacillus pumilus*,
секретируемой в начале стационарной фазы.
Соколова О.В., Маликова Л.А., Марданова А.М.**

студент

Казанский государственный университет, биолого-почвенный
факультет, Казань, Россия
e-mail: keepintouch@mail.ru

Протеиназы микроорганизмов представляют интерес для фундаментальной науки, поэтому большое значение приобретает поиск продуцентов, увеличение выхода ферментов и исследование их свойств. *Bacillus pumilus* КММ 62 из морской воды секретирует протеиназу, активную в отношении специфичного для субтилизинов субстрата Z-Ala-Ala-Leu-pNa. При исследовании биосинтеза фермента было обнаружено 2 максимума накопления субтилизиноподобных протеиназ, приходящихся на 32 и 46-48 часы роста культуры. Целью работы является получение субтилизиноподобной протеиназы ранней стационарной фазы *Bacillus pumilus* КММ 62 в гомогенном состоянии и исследование ряда свойств фермента.

С помощью ионообменной хроматографии на КМ-целлюлозе и высокоэффективной жидкостной хроматографии (FPLC) на колонке MonoS был получен препарат субтилизиноподобной протеиназы со степенью очистки 303,7 и выходом 17,5%. При электрофорезе показано, что получен высокоочищенный белок

Проведено исследование некоторых физико-химических свойств фермента. Определены рН оптимум, термостабильность и температурный оптимум субтилизиноподобной протеиназы. Максимальный уровень активности наблюдался при рН 8,0, что согласуется с данными литературы о максимуме активности субтилизинов в щелочной области рН. Фермент проявлял термостабильность в широких пределах. При температуре 23°C в течение часа фермент сохранял 75% начальной активности. При 37°C мы наблюдали 65% активности после часа инкубации. При более высоких температурах (40, 45, 50 и 55°C) остаточная активность после инкубации в течение часа составила 70, 43, 30 и 25%, соответственно. Через 60 минут при температуре 55°C после начала реакции фермент сохранял остаточную активность 25%, что свидетельствует о высоком уровне термостабильности. Установлено, что температурный оптимум действия протеиназы приходится на 30°C, что соответствует оптимальной температуре роста бацилл.

**Тропонин I как маркер дифференцирующихся в кардиомиоциты
стволовых клеток.**

Соловьева Татьяна Ивановна

студент

МГУ им М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: solobiochem@gmail.com

Применение стволовых клеток (СК) в клинике сопряжено с рядом трудностей. Одной из них является получение достаточного количества кардиомиоцитов при их направленной дифференцировке.

В процессе дифференцировки СК могут давать различные типы клеток, поэтому важно выделять в смешанной популяции те клетки, которые развиваются в кардиомиоциты. Последние характеризуются наличием специфических белков сократительного аппарата (миозин, α -актинин, натрийуретический пептид А, тропонин I). Тропонин I – белок тропонинового комплекса, участвующий в мышечном сокращении. Скелетная и сердечная изоформы тропонина I отличаются по аминокислотному составу, и существует возможность оценивать содержание этих изоформ в клетках с помощью моноклональных антител, специфичных к одной из изоформ.

Поставлена задача разработки метода, позволяющего при анализе содержания изоформ тропонина I изучать дифференцировку СК в кардиомиоциты. В качестве модели использовали кардиомиоциты из сердец эмбрионов крыс и крысят разного возраста. Часть клеток, высаженных на покровные стекла, фиксировали, проводя в дальнейшем иммуноцитохимическое окрашивание с использованием специфичных антител. Из части клеток готовили лизат и определяли концентрацию изоформ тропонина в нем методом флуороиммунного анализа сэндвич-типа с применением детекторных антител, конъюгированных с хелатом европия. Определив количество кардиомиоцитов в смешанных культурах с помощью иммуноцитохимического окрашивания и концентрацию изоформ тропонина I в лизатах, рассчитали содержание каждой изоформы в расчете на 1 кардиомиоцит у крысят на разных стадиях развития. В каждом кардиомиоците 18-дневных эмбрионов и крысят на 1, 3 и 6 дни после рождения содержится 0,019 пг, 0,024 пг, 0,008 пг и 0,001 пг скелетной изоформы и 0,007 пг, 0,011 пг, 0,037 пг и 0,088 пг сердечной изоформы тропонина I.

Предложенный двустадийный подход позволяет оценивать количество кардиомиоцитов в смешанной культуре клеток и определять степень их зрелости. Выдвинуто предположение о том, что, анализируя содержание

сердечной изоформы тропонина I, можно детектировать появление кардиомиоцитов в культуре дифференцирующихся СК; по соотношению двух изоформ белка в одной клетке можно определить степень зрелости кардиомиоцитов.

Сравнение кинетики гибридизации на поверхностных и гелевых олигонуклеотидных микрочипах

Сорокин Николай Владимирович

аспирант

Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

E-mail: nsorokin@biochip.ru

Биочипы используются в качестве средства генетических исследований, для определения патогенных микробов и точечных мутаций. Принцип действия биочипа заключается в избирательном связывании анализируемых биомолекул с тестовыми зондами, зафиксированными в ячейках на твердой подложке. Образовавшиеся комплексы затем регистрируются с помощью флуоресцентной метки.

Ранее нами было показано, что эффективность работы биочипов зависит от факторов, влияющих на термодинамику образующихся комплексов (от выбора оптимальных тестовых зондов, температуры и состава буферного раствора при эксперименте) и от факторов, определяющих кинетику гибридизации анализируемых молекул с тестовыми зондами.

Существуют 2 основные технологии иммобилизации зондов на микрочипах. Теория задержанной диффузии, описывающая кинетику гибридизации на микрочипах с иммобилизацией зондов в слое геля (гелевый микрочип), описана в предыдущих работах. В этой работе представлена теория гибридизации ДНК-фрагментов с олигонуклеотидными зондами, иммобилизованными на поверхности плоской подложки (поверхностный микрочип). Основные положения этой теории проверены экспериментально, проведено сравнение эффективности гибридизации на поверхностных и гелевых олигонуклеотидных микрочипах.

Несмотря на более медленную кинетику, на гелевых микрочипах достигаются более высокие уровни флуоресцентного сигнала и эффективности дискриминации связывания (отношения сигналов правильного и ошибочного связывания). Преимущество в сигналах и дискриминационном отношении проявляется даже на относительно коротких временах 0.5-1 час и со временем быстро растет. После 3 часов гибридизации уровни сигналов на гелевом микрочипе выше в 5-20

раз, а дискриминационные отношения в 2-4 раза. Это связано с тем, что на единицу площади 3-мерной гелевой ячейки приходится гораздо больше молекул зонда, чем в ячейке микрочипа с поверхностной иммобилизацией.

Наше исследование показало преимущество технологии гелевых биологических микрочипов над широко распространенной технологией поверхностных биологических микрочипов.

Морфологические аномалии у бесхвостых амфибий

Спирина Елена Владимировна

аспирант

Ульяновский государственный университет, экологический факультет,
Ульяновск, Россия

E-mail: docolin@mail.ru

Цель работы – изучение частоты встречаемости морфологических аномалий у амфибий в зависимости от загрязнения среды.

Нами были проанализированы амфибии из р. Чамбул, р. Уса и р. Свяга. Реки Чамбул и Уса рассматривались в качестве условно контрольных. Они расположены на значительном удалении от промышленных и аграрных производств. Река Свяга была выбрана для оценки ситуации при сильной комплексной антропогенной нагрузке. Полученные нами результаты химического анализа воды показывают, что во всех пробах воды р. Свяги содержались тяжёлые металлы в концентрациях, превышающих ПДК. Крайне высоким оказалось содержание ионов свинца и кадмия.

Для выявления аномалий нами использовались методы исследований, предлагаемые Е.Е. Коваленко (2000).

Были получены следующие результаты. В р. Чамбул аномалии имели 8 особей из 66, или 12,1 %, в р. Уса из 63 экземпляров аномалии имели 19 особей (30,2%). В р. Свяга из 343 экземпляров 211 особей имели отклонения от нормы в строении посткраниального скелета, а также аномалии глаз, что составляет 61,5 %. Всего был зафиксирован 21 вид аномалий.

У одного экземпляра из р. Свяга, было обнаружено искривление осевого скелета – левосторонний сколиоз. Следует отметить, что у амфибий, пойманных в реках Уса и Чамбул, был встречен только один тип аномалий передних конечностей – гиперплазия и эктрометрия соответственно. У амфибий из реки Свяга зафиксированы следующие типы аномалий передних конечностей: эктродактилия, микродактилия,

эктромелия, дисморфия, гиперплазия. У амфибий из р. Свяга отмечены специфические аномалии задних конечностей: полидактилия, раздвоение пальца, очень длинный палец.

Сравнивая количество обнаруженных аномалий отдельно по передним и задним конечностям, мы зафиксировали аномалии передних конечностей у амфибий р. Чамбул у одной особи и задних у одной особи. У амфибий, пойманных в р. Уса, наблюдались только аномалии задних конечностей (15 особей). У амфибий из р. Свяга 86 экземпляров имели аномалии передних конечностей и 124 экземпляра – аномалии задних. При этом аномалии передних и задних конечностей одновременно присутствуют у 14 экземпляров из р. Свяга и у одного – из р. Уса. Также были обнаружены аномалии глаз: анофтальмия, катаракта, узкий зрачок, депигментация, очень большой зрачок.

Все выявленные нами аномалии следует отнести к «массовым», как по количественному показателю (12,1%, 30,2% и 61,5%), так и по такому критерию, как полиморфизм. Причиной аномалий посткраниального скелета и аномалий глаз у амфибий может быть, на наш взгляд, воздействие факторов внешней среды во время эмбриогенеза.

У амфибий возрастает частота встречаемости гиперплазии, дисморфии и эктромелии передних и задних конечностей по мере смещения мест отлова животных вниз по течению реки Свяги.

**Роль семантической и декларативной памяти в организации
избирательного внимания к словесным сигналам**

Стрельцова Алёна Игоревна

студент

Московский Физико-технический институт,
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,

Москва, Россия

isadora@inbox.ru

Была выдвинута гипотеза (Иваницкий и др., 2003 г.) о том, что селекция словесных стимулов происходит за счет запоминания только релевантных (значимых) стимулов, а слова, которые надо игнорировать, воспринимаются, но затем не сохраняются в декларативной памяти. Эта гипотеза была основана на том, что изменения компонентов вызванных потенциалов (ВП) при ответе на значимые и незначимые сигналы касаются более поздних «когнитивных» волн (400 - 700 мс), связанных с функцией памяти.

Целью работы было изучение ВП при бимодальном предъявлении зрительных и слуховых стимулов. В качестве стимулов использовали слова, которые предъявлялись в 4-х экспериментальных сериях: 1- контрольная серия, 2 - серия, когда нужно запоминать слова на экране и из звуковых колонок, 3,4 – серии, когда нужно запоминать слова только одной модальности (зрительной или слуховой). В эксперименте, состоящем из поведенческой части и записи ЭЭГ, приняли участие 27 человек. У 10 испытуемых регистрировали ЭЭГ по 19 каналам (Neurotravel 24D ATES Medica Device & Soft). Строился ВП отдельно для каждой серии и каждого испытуемого, затем ВП, усредненный по группе.

Анализ ВП в условиях одновременного предъявления слов на экране монитора и через компьютерные динамики показал, что поздние компоненты ВП (больше 400 мс) более позитивны на значимые и негативны на незначимые слова. Этот эффект достигал самого большого значения в центральных (Cz) и париетальных отделах (Pz, P4). Позитивный сдвиг на латентности 400 мс свидетельствует о слова в семантическую память, а негативный сдвиг поздних компонентов – на торможение декларативной памяти (Vargha-Khadem *et al.* 2001; Rugg *et al.*, 1998). Выделен также признак избирательного внимания – это ранняя негативизация (до 100 мс) в центрально-париетальной области при игнорировании зрительных стимулов. Этот признак свидетельствует о том, что происходит переработка незначимой информации на раннем этапе семантического анализа, необходимого для запоминания слова.

После опыта испытуемые также должны были назвать предъявленные им слова. При этом они называли только слова, предъявленные по релевантному каналу. Затем испытуемым показывали список всех предъявленных слов. Оказалось, что при этом они могли узнать многие из нерелевантных слов. Отсюда следует, что незначимые слова действительно воспринимались, но сохранялись только в латентной «памяти узнавания», близкой к семантической, но не в декларативной памяти. Эти два вида памяти связывают, соответственно, с энторинальной корой и гиппокампом (Vargha-Khadem *et al.* 2001).

Следовательно, можно предположить, что селекция вербальных сигналов происходит за счет того, что имеет место блокада передачи нерелевантной информации на структуры гиппокампа, вследствие чего она не сохраняется в декларативной памяти и вытесняется из сознания. Это предположение хорошо согласуется с данными, полученными при исследовании селективного внимания методом ПЭТ (Медведев С.В. и др., 2002) и построении дипольных источников (Мнацаканян Е.В., Иваницкий А.М. и др., 2004).

**Качественная характеристика эритроцитов позвоночных животных
в норме и при гипобарической гипоксии**

Сумин Михаил Николаевич

старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук, доцент

Салимов Даниил Фратович

младший научный сотрудник

Институт иммунологии и физиологии УрОРАН, г. Екатеринбург, Россия

E-mail: msumin@inbox.ru

В нашей работе выполнено описание качественных свойств красных клеток у амфибий (лягушка озёрная, *Rana ridibunda*), птиц (воробей домовый, *Passer domesticus* L.) и млекопитающих (белые беспородные крысы, *Rattus norvegicus*) в норме и в условиях гипобарической гипоксии.

Установлено, что площадь поверхности эритроцитов в единице объёма максимальна у воробья домового ($53,8 \pm 1,5$ кв.дм/мл, $p < 0,01$), имеет меньшее значение у белых крыс ($25,9 \pm 3,15$ кв.дм/мл, $p < 0,01$) и минимальна у лягушки озёрной ($15,9 \pm 3,2$ кв.дм/мл, $p < 0,01$), что соответствует общему уровню метаболизма. Общее количество эритроцитов имеет максимальное значение у крыс ($6,22 \pm 0,37$ Т/л, $p < 0,05$), промежуточное - у воробьёв ($3,02 \pm 0,15$ Т/л, $p < 0,05$) и минимальное - у лягушек ($0,23 \pm 0,03$ Т/л, $p < 0,05$), тогда как средняя площадь поверхности эритроцита убывает в ряду - лягушки ($746,8 \pm 21,2$ кв. мкм, $p < 0,01$), воробьи ($172,3 \pm 6,16$, $p < 0,01$) кв.мкм, крысы ($46,53 \pm 3,57$ кв.мкм, $p < 0,01$). Таким образом, у воробьёв и у крыс большая площадь дыхательной поверхности крови достигается за счёт большего количества эритроцитов меньшего размера. Содержание гемоглобина в крови имеет наибольшее значение у крыс ($124,59 \pm 14,02$ г/л), меньшее у воробьёв ($109,63 \pm 10,4$ г/л) и минимальное у лягушек ($79,6 \pm 4,65$ г/л). При этом степень гемоглобинизации практически одинакова у клеток воробьёв ($34,11 \pm 3,9$ пг) и лягушек ($37,92 \pm 4,2$ пг, $p > 0,05$), но достоверно ниже у млекопитающих ($19,9 \pm 1,24$, $p < 0,01$).

В условиях двухнедельной гипобарии ($40,98$ кПа – соответствует $7\ 000$ м над уровнем моря) у лягушек отсутствуют какие-либо изменения со стороны системы эритрона. У воробьёв, как через одну, так и через две недели гипоксии происходит увеличение концентрации гемоглобина в крови за счёт увеличения количества эритроцитов при отсутствии изменений степени гемоглобинизации клеток и соотношения между изоформами гемоглобина. Отмечается возрастание суммарной площади поверхности эритроцитов в единице объёма, что достигается как за счёт

эритроцитоза, так и за счёт макроцитоза. При этом вклад макроцитоза в данную реакцию составляет около 46 %. У крыс после недельной гипоксии за счёт поступления в кровоток эритроцитов с более высокой степенью гемоглобинизации повышается общая концентрация гемоглобина. Новые эритроциты характеризуются более высоким содержанием пятой и шестой изоформ гемоглобина (фетальные изоформы). После двухнедельной гипоксии возрастает общая площадь поверхности эритроцитов в единице объёма крови, что достигается как за счёт эритроцитоза, так и за счёт макроцитоза, вклад которого в реакцию составляет около 63%. Таким образом, у млекопитающих реакции эритрона в ответ на гипоксию становятся более сложными и разнообразными.

Изменения параметров гемодинамики при острой геморрагии у крыс с вазоренальной гипертензией

Тарасова Надежда Валерьевна

Студентка 5 курса

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: compass_@mail.ru

Почки играют важную роль в долговременной регуляции артериального давления (АД), поэтому многие нарушения их работы неизбежно приводят к стойкому повышению АД. Вазоренальная форма гипертензии связана с нарушением кровоснабжения почек, ее пусковым моментом является активация ренин-ангиотензиновой системы. Поскольку за поддержание АД при кровопотере отвечают те же регуляторные системы, работа которых изменена при вазоренальной гипертензии, можно предположить, что гипертензивные крысы будут иначе переносить геморрагию. Таким образом, целью данной работы было сравнить изменения параметров гемодинамики при острой геморрагии у крыс с нормальным уровнем АД и у крыс с вазоренальной гипертензией.

Вазоренальную гипертензию вызывали путем наложения суживающего зажима на левую почечную артерию. Через 6-7 недель после искусственного сужения артерии проводили регистрацию АД у бодрствующих крыс через катетер, имплантированный в бедренную артерию. Для моделирования кровопотери проводили отбор крови через катетер в сонной артерии с постоянной скоростью так, чтобы объем,

забираемый за 40 мин, составил 2,7 мл/100 г массы тела (40 - 45% объема циркулирующей крови).

Фоновый уровень АД у гипертензивных крыс был на 35% выше, чем в контроле, длительность пульсового интервала (ПИ) не различалась. На начальной стадии геморрагии АД не изменяется. Падение АД и увеличение ПИ во время геморрагии у гипертензивных крыс начинается раньше и выражено сильнее, чем у нормотензивных, что, по-видимому, обусловлено угнетением барорефлекторной регуляции сердечного ритма и тонуса сосудов. Кроме того, более сильное падение АД у гипертензивных крыс может быть вызвано тем, что ренин-ангиотензиновая система у них исходно находится в активированном состоянии, поэтому возможности ее дополнительной активации при геморрагии оказываются пониженными. Более значительное замедление сердечного ритма во второй фазе геморрагии у гипертензивных крыс, чем у нормотензивных, может быть связано с гипертрофией миокарда и с более выраженным рефлекторным усилением парасимпатических влияний в результате активации желудочковых афферентов.

Таким образом, вазоренальная гипертензия ускоряет развитие декомпенсаторных изменений кровообращения при острой геморрагии.

Разрушение азокрасителей и их смесей анаэробным илом и адаптированными микробными сообществами

Телегина Анна Феликсовна

аспирант

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

e-mail: anna_telegina@mail.ru

Азокрасители составляют основную часть используемых в настоящее время синтетических красящих веществ. Сточные воды текстильных, красильных, отделочных производств содержат высокие концентрации этих соединений. Азокрасители и продукты их неполного разрушения являются токсичными для живых организмов и даже в малых концентрациях оказывают канцерогенное и мутагенное воздействие.

В нашей работе была показана возможность быстрого обесцвечивания азокрасителей неадаптированным анаэробным илом с образованием ароматических аминов. В ряде случаев полученные аминокрасительные соединения оказались более токсичными для бактериального сообщества, чем исходные азокрасители, и их разрушение резко замедлялось или полностью прекращалось.

Варьирование физико-химических параметров (концентрации красителей, температуры, освещенности, перемешивания, добавление дополнительных субстратов) позволило подобрать оптимальные условия для формирования стабильных анаэробных сообществ, способных к многократному разрушению азокрасителей.

Однако, в сточных водах содержатся различные смеси красителей, поэтому в наших исследованиях мы обратились к изучению биодegradации смесей красителей. Было показано, что основные закономерности, полученные при наблюдении за бактериальными сообществами, разрушающими индивидуальные азокрасители, подтверждаются при использовании их смесей. При этом мы наблюдали за способностью бактериальных сообществ, адаптированных к деградации одного красителя, разрушать другой краситель. Также в результате сравнения биодegradабельности смесей азокрасителей для неадаптированного анаэробного ила и для бактериальных сообществ, стабильно разрушающих определенные азокрасители, было обнаружено, что адаптированные сообщества способны к более эффективному разрушению некоторых смесей.

Роль полиморфизма генов цитокиновой сети в патогенезе эссенциальной гипертензии

Тимашева Я.Р.

аспирант

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.

Уфа, Россия

ianina_t@mail.ru

Исследуется генетическая предрасположенность к эссенциальной гипертензии (ЭГ) – одной из главных причин заболеваемости и смертности в зрелом возрасте в современном мире. В ряде работ продемонстрировано, что у больных ЭГ нарушено соотношение про- и противовоспалительных цитокинов. Целью исследования было обнаружение ассоциаций полиморфизма генов интерлейкина-6, интерлейкина-12 и интерлейкина-10 с ЭГ.

В исследование включены 355 пациентов с гипертензией и 343 индивидуума без признаков сердечно-сосудистых заболеваний, не состоящих в родстве друг с другом. Все участники исследования были мужчинами, татарами по этнической принадлежности. ДНК выделялась из цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной и солевой экстракции. Генотипирование проводилось методом ПЦР с

последующей рестрикцией. Генотипы *IL-6 -573 G/C*, *IL-12 1159 C/A* и *IL-10 -627 C/A* идентифицировались путем разделения фрагментов ДНК в агарозно-акриламидном геле. Статистическая обработка результатов производилась с использованием программы Statistica 6.0. Различия частот генотипов и аллелей сравнивались с использованием точного двустороннего критерия Фишера. Силу ассоциаций оценивали по показателю соотношения шансов (OR).

Обнаружено, что генотип *-627 CC* и аллель *C* гена *IL-10* ассоциированы с пониженным риском ЭГ (OR=0.45, P=0.005, CI: 0.26-0.78 и OR=0.47, P=0.002, CI: 0.29-0.75, соответственно). Ранее показано, что данный генотип ассоциирован с пониженным содержанием в сыворотке интерлейкина-10, обладающего атеропротективным действием. Распределение генотипов и аллелей гена *IL-6* в группе больных и контроле существенно не различалось, однако частота генотипа *-573 GG* гена *IL-6* была значительно выше в группе больных с гипертензией, перенесших инсульт, по сравнению с группой больных неосложненной ЭГ (P=0.036) и с контрольной группой (P=0.028). Установлено, что обладатели генотипа *1159 AA* гена *IL-12* имеют более низкий риск развития ЭГ (OR=0.51, P=0.006, CI: 0.32-0.82). Эти данные подтверждают участие цитокинов в развитии сердечно-сосудистых заболеваний.

Механизм разрушения ферментов полиэлектролитами. Возможная токсичность для клетки.

Тихоненко С.А., Сабурова Е.А., Шабарчина Л.И., Дыбовская Ю.Н., Сухоруков Б.И.

аспирант

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142292
г. Пущино, Моск. обл.

e-mail: tsa83@rambler.ru

Настоящая работа посвящена экспериментальному и теоретическому изучению механизма связывания полиэлектролитов с олигомерными ферментами с целью определения условий токсичности полиэлектролитов для клетки. Изучено влияние широкого класса синтетических полиэлектролитов с разным расположением ионогенных групп, знаком заряда и разной гидрофобностью полиэлектролитного остова на ферментативную активность и структурные характеристики гексамерного фермента уреазы из *Canavalia ensiformis* при pH 6.2. Применение экспериментальных методов - флуоресцентной

спектроскопии, кругового дихроизма и стационарной ферментативной кинетики показало: 1) Поликатионы инактивируют уреазу с постоянной времени порядка мин, в то время как полианионы не изменяют ее активности. 2) Сродство субстрата – мочевины - к частично инактивированной уреазе в присутствии поликатионов не изменяется. 3) Интенсивность белковой флуоресценции падает до нуля при образовании комплекса уреазы с полиэлектролитом. 4) Данные кругового дихроизма в полосе поглощения пептидных групп показали, что разрушение фермента полианионом происходит постепенно, через образование промежуточных метастабильных конформаций. Обсуждается роль олигомерного состояния ферментов, обуславливающего особое действие на них полиэлектролитов, принципиально отличающееся от действия полиэлектролитов на односубъединичные ферменты: оно состоит в “расклинивающем” действии полиэлектролита на олигомерную структуру ферментов. Мы полагаем, что результаты теоретического и экспериментального анализа могут быть полезны для понимания роли полиэлектролитов в регуляции внутриклеточных метаболических процессов, выявить условия их токсичности и соответственно позволят вести направленный выбор нетоксичных полиэлектролитов для приготовления капсулированных фармакологических препаратов.

**Оценка влияния неоднородности толщины кости черепа на
точность локализации дипольных источников вызванных
потенциалов в мозге человека**

Ткаченко Ольга Николаевна

студент

Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

E-mail: allais@yandex.ru

Оценка локализации дипольного источника потенциалов мозга (эквивалентного токового диполя) широко используется в нормальной и клинической нейрофизиологии. Локализация дипольных источников мозга основана на решении обратной задачи электростатики: по данным многоканальной регистрации ЭЭГ рассчитывается местоположение, мощность и направление (вектор или дипольный момент) диполей, создающих на скальпе человека распределение потенциалов, наилучшим образом совпадающее с экспериментальным. До настоящего времени для локализации дипольных источников ЭЭГ применяется многослойная сферическая или эллиптическая модель, которая

используется в большинстве программ предназначенных для этой цели. Обратная задача предполагает множество итераций решения прямой задачи, что делает затруднительным широкое распространение метода граничных элементов (BEM- boundary element method) и метода конечных элементов (FEM - finite element method). Для решения обратной задачи с использованием FEM-алгоритма применяют суперкомпьютерные конфигурации. Преимущество модели, представляющей собой совокупность концентрических эллипсоидов или сфер, состоит в том, что решение прямой задачи может быть найдено при помощи теоретической формулы, что требует времени порядка долей секунды. Однако точность этого приближения до сих пор систематически не исследовалась. Проведение такого исследования и является целью данной работы. При этом основное внимание уделялось влиянию неоднородности толщины кости черепа. Поскольку именно этот слой обладает наихудшей проводимостью из всех покровов мозга, мы полагаем, что неоднородность его толщины значительно влияет на точность локализации источника. Нами был разработан алгоритм, основанный на методе граничных элементов и быстром преобразовании Фурье, позволяющий решить прямую задачу за время порядка десятков секунд. Разработанный алгоритм показал хорошее соответствие аналитическому решению при решении прямой задачи для многослойной сферической модели. В работе решалась прямая задача для четырехслойной эллиптической модели, в которой центры двух внутренних эллипсоидов, при помощи которых моделировались внешняя поверхность мозга и внутренняя поверхность кости черепа, были смещены относительно центров двух внешних эллипсоидов, описывавших внешнюю поверхность кости и поверхность скальпа. Для полученного распределения потенциалов на поверхности скальпа при помощи программы для локализации дипольных источников BESA решалась обратная задача. Полученная локализация сравнивалась с исходным положением диполя, и расстояние между исходным и полученным при решении обратной задачи положениями диполя использовалось как мера точности локализации источника. В зависимости от положения диполя расстояние между исходным и локализованным дипольными источниками составляло до 10% от большой оси эллипсоида. В связи с этим нам представляется целесообразным учитывать при локализации неоднородность толщины кости черепа и, следовательно, применять для локализации метод граничных элементов, позволяющий достичь хорошей точности решения прямой задачи за приемлемое время.

**Клонирование, бактериальная экспрессия и исследование
возможного применения в генно-инженерных целях D15 T5 5'-
3'экзонуклеазы бактериофага T5.**

Ткачук Артем Петрович¹, Хаустов Сергей Анатольевич²

¹Студент 4 курса, биологический факультет,
кафедра молекулярной биологии Пушкинского филиала
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова
Учебный центр молекулярной биологии Института белка РАН, Пушкино,
Россия

²Научный сотрудник Института теоретической и экспериментальной
биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

art_protres@rambler.ru

Для создания химер-организмов, обладающих необычными сочетаниями признаков, разработаны методы манипулирования генами *in vitro*. Одну из базовых методик при работе с генетическим материалом занимает группа методов по выделению и получению в гомогенном состоянии плазмидной ДНК.

5'-3' экзонуклеаза бактериофага T5 – небольшой белок (33,4 кДа), относящийся к семейству гомологичных 5'- нуклеаз, участвующих в процессах репликации, репарации и рекомбинации ДНК. Фермент обладает высокой 5'-3' экзонуклеазной активностью как в отношении одноцепочечной, так и двуцепочечной ДНК. Он обладает также активностью РНКазы-Н в ДНК-РНК гибридах. T5 5'-3' экзонуклеаза также обладает эндонуклеазной активностью на одноцепочечной ДНК, которая сильно зависит от концентрации ионов Mg²⁺.

Уникальные свойства фермента открывают возможности его использования для очистки суперспиральной плазмидной ДНК от таких форм, как необратимо денатурированная, геномная ДНК, одноцепочечных молекул ДНК. Эндонуклеазная активность в отношении одноцепочечной ДНК в сочетании с 5'- 3' экзонуклеазной активностью позволяет переводить никированные двуцепочечные формы ДНК в одноцепочечные, либо удалять.

Целью нашей работы стало клонирование гена D15 5'- 3' экзонуклеазы бактериофага T5, получение суперпродуцента и исследование возможного применения изучаемого фермента для вышеперечисленных целей.

Нами клонирован ген D15 5' - 3' экзонуклеазы бактериофага T5. Генноинженерная конструкция pET28bD15T5, кодирующая 5'-3' экзонуклеазу, создана на основе вектора pET28b. Получен эффективный

суперпродукт в штамме *E. coli* BL21(DE3)pLys. Практически весь фермент находится в растворимой форме. Применяя оптимизированную нами методику выделения белка D15 T5, с помощью жидкостной ионообменной хроматографии был получен гомогенный препарат изучаемого фермента. Методом абсорбционной спектрофотометрии оценена концентрация полученного фермента. Она составила 0,163 мг/л бактериальной культуры.

Фермент проявляет 5'-3' экзонуклеазную активность на двуцепочечной ДНК в концентрации порядка 16 нг/мл, ращепляя релаксированные, линейные формы плазмидной ДНК. В концентрации 25 нг/мл T5 5'-3' экзонуклеаза ращепляет необратимо-денатурированные формы плазмид, что может найти широкое применение в области получения гомогенных форм плазмидной ДНК для различных целей.

Немалый интерес представляет возможность коррекции ошибок, возникающих в процессе полимеразной цепной реакции в работах по химико-энзиматическому синтезу генов с использованием изучаемого нами фермента.

Использование лентивирусной трансдукции для маркировки мезенхимальных стромальных клеток костного мозга крысы зеленым флуоресцентным белком

Ударцева Ольга Олеговна

студент

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: olja_udartseva@rambler.ru

В настоящее время к полипотентным мезенхимальным стромальным клеткам (МСК) относят фибробластоподобные клетки из костного мозга и других источников, адгезирующие к пластику и дифференцирующиеся *in vitro* в клеточные линии различных тканей. В настоящем исследовании была поставлена цель отработать метод маркировки МСК зеленым флуоресцентным белком. Для этого были поставлены следующие задачи: выделить МСК из костного мозга крысы, исследовать особенности культивирования МСК, индуцировать их остеогенную и адипогенную дифференцировку, провести фенотипический анализ полученных субпопуляций, и, наконец, трансдуцировать ген GFP в МСК с помощью генетических конструкций на основе лентивируса.

Работа выполнена с использованием костного мозга молодых крыс (возраст 4-5 недель). Были проанализированы уровень и динамика экспрессии антигенов МСК CD44, CD54, CD90, оценена способность МСК к дифференцировке и подобран оптимальный вектор для трансфекции этих клеток. Выяснено, что популяция МСК содержит 75% CD44+ клеток, 43.5% - CD54+, 76% - CD90+. Двойное окрашивание на CD44 и CD90 показало, что у большинства клеток эти маркеры коэкспрессируются. Среди CD90+ клеток были обнаружены две субпопуляции: с высокой и с малой интенсивностью флуоресценции. По стандартной методике индуцировали остеогенную дифференцировку МСК. Клетки этой линии выявляли гистохимической реакцией на щелочную фосфатазу. Было отмечено, что при прекращении индуцирующего воздействия количество окрашенных клеток уменьшается, что позволяет предположить отсутствие терминальной дифференцировки у части остеогенной популяции. Остеогенная дифференцировка изменила экспрессию антигенов МСК следующим образом: CD44 – 83.5%, CD54 – 59%, CD90 – 96%. При этом у всей популяции CD90+ клеток интенсивность флуоресценции стала высокой, что явилось косвенным свидетельством интенсификации экспрессии этими клетками CD90-антигена. Культивируемые МСК были также способны к спонтанной адипогенной дифференцировке в среде, содержащей 20% сыворотки (10% FBS+10%HS). При этом в культуре появлялись островки клеток с цитоплазматическими включениями, которые окрашивались жировым красителем Oil-red O. Таким образом, полученные в работе клетки соответствовали принятым на сегодняшний день критериям оценки МСК. Полученные таким образом МСК крысы трансдуцированы *in vitro* маркерным геном GFP с помощью генетических конструкций на основе кошачьего FIV (60% эффективность) и человеческого HIV (100% эффективность). В дальнейшем предполагается использование этих клеток, маркированных GFP, для исследования функции и поведения трансплантированных *in vivo* МСК.

Моделирование структуры и динамики потенциал зависимого калиевого канала KvAP

Узунян Ольга Андреевна

студентка

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: olya_u@moldyn.org

Потенциал-зависимые калиевые активируются и проводят ионы в ответ на изменение трансмембранного потенциала; этот принцип лежит в основе генерации нервного и мышечного потенциалов действия. Эти каналы построены по схеме, описанной для канального белка KvAP, выделенного из архей *Aeropyrum pernix*. Четыре одинаковые субъединицы окружают центральную пору, стенки которой “облицованы” двумя гидрофобными спиральными сегментами - S5 и S6 - каждой субъединицы. В построении участвуют 6 спиралей, гибко соединенных между собой петлями. Вместе они составляют 2 функциональных участка - селективный фильтр (S5 и S6), определяющий ионную избирательность, и потенциал-чувствительный сенсор (S1-S4). В настоящее время пространственная структура канала расшифрована, и он весьма интересен для исследования методами молекулярной динамики детального механизма ионной проводимости и селективности.

Рассматривается вопрос организации потенциал-зависимого канала KvAP, методов построения его компьютерной модели, расчетов молекулярной динамики конформационных изменений при открытии канала. Изучается динамика мембранной структуры, характерной для термофильных архей. Мембранная структура состояла из 64 молекул тетраэфира с 40-углеродной замкнутой цепью, собранных в липидный слой с гексагональной решеткой.

Для моделирования структуры канала использовались данные рентгеноструктурного анализа субъединицы (код последовательности 1 субъединицы в базе данных PDB 1ORQ). Собранный тетрамер помещен в гидратированную мембрану из молекул пальмитоилфосфотидилхолина. Проводился расчет траекторий комплекса белок-мембрана с помощью пакета *Gromacs 3.1.4* методом стохастической динамики. Описывалось поведение S3-S4 домена, отвечающего за открытие и закрытие канала. Изучалась поровая часть канала (S5-S6 спирали) и влияние замены некоторых аминокислот в этих сегментах на селективность и проводимость.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 04-04-49645) и Роснауки.

**Клаdistический анализ семейства божьи коровки (Coleoptera,
Coccinellidae) Палеарктики**

Украинский Андрей Сергеевич

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: para@proc.ru

Попытка применения методов клаdistики к представителям сем. Coccinellidae предпринималась лишь однажды китайским исследователем Ю (Yu, 1994). Результаты этой работы оказались весьма противоречивыми.

Мы проанализировали 23 трибы из всех когда-либо выделявшихся подсемейств коровок. Рассмотрены большинство триб Палеарктики, в том числе все 16 триб кокциnellид, обитающие на территории России и 7 триб, обитающие за ее пределами. Клаdistический анализ проводился сразу по всем признакам (имагинальным и преимагинальным), сведенным в единую матрицу. Для построения по матрице кладограмм использован пакет программ PAUP 512. Клаdistический анализ проводился с изменением значений параметра HOLD и присутствием – отсутствием параметра UNORDERED ALL.

Впервые на основе результатов клаdistического анализа, проведенного с использованием преимагинальных и имагинальных признаков, построена система сем. Coccinellidae. Обоснована голофилетичность подсем. Epilachninae (включая трибы Epilachnini и Cynegetini) и Coccinellinae (включая трибы Coccinellini, Tytthaspini, Vulaeini и Pyslloborini), однако родственные связи между трибами в подсем. Coccinellinae требуют дальнейшего изучения. Доказана монофилия подсем. Sticholotinae sensu lato лишь в качестве парафилии. Выявлена близость трибы Singhikalini к другим трибам Coccidulinae (исключая Noviini). Мы считаем неоправданным обособление трибы Lithophilini в отдельное подсемейство. Комплексу Scymninae + Chilocorinae (включая Noviini) нами придан ранг подсемейства. В его составе трибы из подсем. Chilocorinae sensu Sasaji, 1968 обособлены в отдельный голофилетический таксон. Получены дополнительные аргументы для переноса трибы Noviini в подсем. Scymninae.

Влияние синтетического препарата «Мелафен» на синтез стероидных сапонинов в культуре клеток *Dioscorea deltoidea* Wall.

Ульянова Ксения Александровна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: ylianovaks@mail.ru

Стероидные лекарственные препараты играют все большую роль в фармацевтической промышленности. В настоящее время ведутся интенсивные исследования культуры клеток *Dioscorea deltoidea* Wall. как возможного поставщика стероидных сапонинов и их агликона – диосгенина, из которого получают более 50% всех стероидных препаратов.

Применение элиситоров является весьма перспективным способом получения высокого уровня синтеза целого ряда вторичных метаболитов. Элиситоры играют роль первичных сигналов и приводят в действие сложнейшую сеть процессов индукции и регуляции фитоиммунитета. Это проявляется в синтезе защитных белков, нелетучих растительных антибиотиков – фитоалексинов, в выделении антипатогенных летучих соединений и др. Препарат «Мелафен» представляет собой синтетический элиситор, который влияет на ростовые процессы и специализированный обмен культуры клеток.

Таким образом, представляется актуальным изучение влияния «Мелафена» на синтез олигофуростаноловых сапонинов. Объектом исследования служила суспензионная культура клеток *Dioscorea deltoidea* Wall. шт. ИФР-ДМ-3, которую выращивали на модифицированной среде Мурашиге и Скуга с фитогормонами (опыт 1) и без фитогормонов (опыт 2). «Мелафен» добавляли в питательную среду на 7 сутки роста культуры в конечных концентрациях 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} г/л. Об эффективности действия «Мелафена» судили по уровню накопления олигофуростанозидов и приросту биомассы. Определение содержания сапонинов проводили спектрофотометрическим методом с помощью реактива Эрлиха. Прирост биомассы определяли по увеличению сухой массы клеток на 17 сутки роста культуры.

Было установлено, что при добавлении «Мелафена» (10^{-2} г/л) в питательную среду без фитогормонов статистически значимо возрастает содержание олигофуростанозидов (на 14,5%), стимуляции накопления биомассы не наблюдалось. В опыте с фитогормонами изменений в содержании олигофуростаноловых сапонинов и пророста биомассы

также не было обнаружено. Таким образом, «Мелафен» способствует повышению продуктивности культуры клеток *Dioscorea deltoidea* Wall.

**Прооксидантное и цитотоксическое действие антиоксиданта
глутатиона в комбинации с витамином В_{12b}**

Фасхутдинова Алсу Амировна

аспирант

Институт теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино,
Московская область, Россия

E-mail: falsou@rambler.ru

Тиол-содержащим соединениям принадлежит ведущая роль в защите белков клетки от окислительного стресса. Также они вызывают большой интерес при изучении свойств белковых молекул. На основе тиоловых соединений создан целый ряд синтетических антиоксидантов, снижающих клеточные повреждения, радиопротекторов, лекарственных препаратов, применяемых при терапии атеросклероза, ишемической болезни сердца, интоксикациях. Особое место среди этих соединений занимает глутатион, который является одним из ключевых компонентов в антиоксидантной защите клеток и стабилизатором мембран. Выпускается глутатион и как лечебный препарат. Вместе с этим, глутатион при концентрациях, обычно применяемых для защиты клеток от окислительного стресса, может вызвать повреждающий эффект. Недавно мы обнаружили неожиданное цитотоксическое действие сочетания тиола GSH с витамином В_{12b}, и предположили, что в комбинации с Со³⁺, входящим в состав В_{12b}, GSH способен выступать в качестве прооксиданта. Антиоксиданты, в том числе и тиолы, зачастую используются в медицине одновременно с витаминными препаратами, что может привести к повреждающему воздействию на клетки и ткани организма. С другой стороны, цитотоксический эффект сочетания тиолов с В_{12b}, может быть положен в основу при разработке новых лекарственных (противоопухолевых) средств. Поэтому изучение воздействия на клетки витамина В_{12b} в сочетании с тиол-содержащими агентами является актуальным.

С помощью проточной цитометрии, флуоресцентной микроскопии, комет анализа и ряда других методов мы установили, что GSH в сочетании с витамином В_{12b} образует прооксидантную каталитическую систему, которая вызывает генерацию перекиси водорода, вне- и внутриклеточный окислительный стресс, повреждение окислительно-восстановительной системы клетки, повреждение ДНК и запуск

апоптотической гибели клеток эпидермоидной карциномы гортани человека Нер-2. Инициация гибели клеток осуществляется в течении 40-60 мин с участием внутриклеточного железа, а гибель клеток начинается после 4-7 ч воздействия.

Исследование роли пресинаптических н-холинорецепторов в регуляции активности нервно-мышечного синапса мышцы

Федорин Василий Васильевич

Аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: ibo_ych@mail.ru

В нашей работе была исследована способность никотина - избирательного агониста никотиновых холинорецепторов (нХР) - воздействовать на синаптическую передачу и модулировать выброс медиатора на пресинаптическом уровне в нервно-мышечном синапсе мышцы. Интерес к такому роду исследований объясняется скудостью данных о наличии нХР нейронального типа на моторных нервных терминалях, и в особенности это касается $\alpha 7$ -типа нХР. Весьма важным также является выявление эффектов тонического введения низких доз экзогенного никотина, воспроизводящих эффект системного действия этого алкалоида при курении табака.

Нам удалось определить концентрации экзогенного никотина, при которых он минорно воздействует на мышечный тип нХР, но сохраняет (при длительной — 1-1,5 часовой экспозиции) способность активировать более высокочувствительный к никотину нейрональный тип пресинаптических нХР. Мы установили, что в условиях аппликации на мышцу никотина в низкой - 10^{-8} М - концентрации он оказывает притормаживающее воздействие на секрецию ацетилхолина (АХ) по ходу коротких ритмических залпов ПКП. Это выражается в достоверном снижении на 10-15% амплитуды ПКП на фазе плато при всех частотах разрядов (4-50 Гц).

Наши данные позволяют предполагать, что торможение никотином секреции АХ на фазе плато по ходу залпа опосредуется через пресинаптическое нХР $\alpha 7$ -типа. В пользу этого говорят два полученных нами факта:

- 1) торможение предотвращается действием α -кобратоксина (избирательного блокатора нХР нейронального типа);

- 2) тормозный эффект никотина демонстрирует Ca-зависимость (по-видимому, от потока кальция, поступающего по нХР $\alpha 7$ -типа, эффективно пропускающих ионы Ca^{2+}).

Наконец, мы впервые показали, что тормозное действие никотина может быть предотвращено блокадой K_{Ca} -каналов апаминном. При этом сам апамин практически не меняет характер секреции АХ. Однако на фоне апамина (10^{-6} М) никотин полностью терял способность притормаживать передачу по ходу залпа, в особенности - на фазе плато. Это означает, что в моторных синапсах мыши никотин реализует свое тормозное действие на секрецию АХ на фазе плато через активацию нХР $\alpha 7$ -типа с последующей активацией апамин-чувствительных низкопроводящих K_{Ca} -каналов терминали. Можно предполагать, что возникающая при этом гиперполяризация мембраны терминали затормаживает работу потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов, снижает поток входящего в терминаль кальция при генерации ПД и, как следствие, – понижает вероятность Ca^{2+} -зависимой секреции квантов АХ.

В работе впервые получены фармакологические доказательства возможного присутствия нейрональных нХР $\alpha 7$ -типа на нервных терминалах моторных синапсов и возможного их соучастия в регуляции секреции АХ. В отличие от ЦНС, где активация пресинаптических нХР $\alpha 7$ -типа приводит к облегчению передачи, в моторных синапсах мыши эффект оказался противоположным, тормозным, причем торможение – Ca^{2+} -зависимое. Мы предполагаем, что оно осуществляется с участием входа наружного кальция в терминаль по каналам нХР с последующей тонической активацией апамин-чувствительных K_{Ca} каналов.

**Сравнительная карпология представителей рода *Triopterys*
(*Malpighiaceae*)**

Филоненко Андрей Владимирович

студент

Московский Педагогический Государственный Университет

Email: avfilonenko@yandex.ru

Плоды представителей рода *Triopterys* традиционно описываются как крылатки или крылатые орехи. С целью определения типа плода *Triopterys* и установления связей с другими таксонами *Malpighiaceae* изучали анатомию перикарпия 3 видов рода: *T. floribunda* Billb. in Thunb., *T. jamaicensis* L. и *T. rigida* Sw.

Плоды *Triopterys* синкарпные, дробные, развиваются из 3 плодолистиков. Каждый мерикарпий снабжен “У-видным крылом” расположенным в дорзовентральной плоскости. Перикарпий дифференцирован на три гистогенетические зоны: экзокарпий, мезокарпий и эндокарпий. Общее число слоев клеток перикарпия 6-11. Экзокарпий представлен однослойной эпидермой из тонкостенных уплощенных клеток. Мезокарпий представлен 1-5 слоями крупных тонкостенных паренхимных клеток, с дорзальной стороны мерикарпия выявляется внутренний слой тонкостенных кубических клеток. Эндокарпий представлен 3-8 слоями веретеновидных склереид, уложенных в тангентальном направлении. Крыло заполнено паренхимными клетками мезокарпия, толща паренхимы пронизана дериватами проводящих пучков и тяжами склеренхимы.

У представителей *Triopterys* прослеживается морфологическое и анатомическое единообразие плодов. Плоды *Triopterys* следует рассматривать как синкарпные **дробные пиренарии**. Морфология плодов и анатомия перикарпия *Triopterys* сходны с таковыми у плодов представителей рода *Aspidopterys*. Перикарпий у представителей обоих родов дифференцирован на три гистогенетические зоны: экзокарпий, мезокарпий и эндокарпий. Экзокарпий представлен однослойной эпидермой, сложенной уплощенными паренхимными клетками. Мезокарпий сложен крупными паренхимными клетками (хотя у *Aspidopterys* число слоев клеток мезокарпия больше). У представителей обоих родов выявляется дополнительный внутренний слой мезокарпия, сложенный крупными кубическими паренхимными клетками. Эндокарпий представлен тангентально уложенными веретеновидными склереидами, но у *Aspidopterys* число слоев клеток эндокарпия также существенно больше. Сравнительно-карпологический анализ демонстрирует близкие филогенетические связи между родами *Aspidopterys* и *Triopterys*, что согласуется с данными молекулярной систематики.

Изучение геронтопротекторного действия препарата Тортезин

Фомина Марина Александровна

аспирант, магистр биологии

Институт биохимии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

E-mail: fominmarina@yandex.ru

В 2003-2004 г в Узбекистане был разработан новый иммуностимулирующий, радиотерапевтический и антианемический

препарат «Тортезин». Препарат представляет собой сумму нейтральных олигопептидов из крови среднеазиатских черепах *Testudo horsfieldi*. Его планируется применять с целью профилактики и лечения людей, страдающих гематологическими заболеваниями различной этиологии, в частности иммунодефицитными состояниями, и для восстановления кроветворения после лучевой терапии. Разработан технологически простой способ получения крови черепах, не требующий умерщвления животных, и произведено патентование этого способа.

Доклинические испытания препарата на добровольцах (из числа разработчиков) выявили несколько очень приятных «незапланированных» эффектов. С первых дней после применения препарата наблюдалась нормализация сна, резкое улучшение мышечного тонуса, выносливости, возрастание половой активности. Так как не наблюдалось повышения аппетита, создаётся впечатление, что Тортезин нормализует, оптимизирует внутренние биохимические процессы в клетках, не используя внешние ресурсы.

Одной из актуальных проблем геронтологии является выяснение молекулярной основы физиологических механизмов старения и создание на этой основе комплексов мероприятий по увеличению продолжительности жизни. Значительное внимание уделяется роли пептидной регуляции старения. Считается, что современные гериатрические средства должны осуществлять нормализующее влияние на лимитирующие звенья процесса старения – генетический аппарат клеток, состояние клеточных биомембран, свободно-радикальные процессы (перекисное окисление липидов), энергетическое обеспечение клетки, систему митохондриального (монооксигенезного) окисления, нейроэндокринную регуляцию.

Мы изучали влияние Тортезина (однократная инъекция, 1 мкг/кг массы) на продолжительность жизни беспородных белых мышей, поедание корма и общий тонус согласно общепринятым методическим рекомендациям.

Установлено, что Тортезин обладает ярко выраженным геронтопротекторным эффектом. Продолжительность жизни самцов увеличилась на 30%, самок – на 18%. Двигательная активность самцов на протяжении всего эксперимента составляла 250-300% к контролю, самок - 350-400%. Нагрузочные тесты (вращающийся стержень) показали увеличение работоспособности самцов в среднем на 160%, а у самок на 80%. Поедание корма при этом увеличилось у самцов всего на 35%, а у самок – на 15%.

**Кардиомиоциты левого желудочка крыс через 24 часа после
инфаркта**

Фоминых Елена Сергеевна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: melisena@mail.ru

Показано, что гептапептид семакс, модифицированный фрагмент адренорикотропного гормона, оказывает протекторное воздействие на кардиомиоциты сердца крыс в острой стадии инфаркта миокарда: через 2,5 часа после инфаркта число ультраструктурных нарушений ядер и митохондрий в кардиомиоцитах резко снижено у животных, которым вводился семакс. Известно также, что в хронической стадии инфаркта миокарда – через 28 суток - семакс препятствует развитию гипертрофии кардиомиоцитов, однако не влияет на степень проявления ультраструктурных нарушений в этих клетках. Влияние семакса на миокард на других сроках инфаркта остается не изученным.

В настоящей работе методами световой и трансмиссионной электронной микроскопии исследованы кардиомиоциты левого желудочка сердца крыс через 24 часа после инфаркта, моделированного по методу Селье перевязкой нисходящей ветви левой коронарной артерии с формированием зоны ишемии в области верхушки и передней стенки левого желудочка. Семакс вводили внутривенно в концентрации 150 мг/кг дважды через 15 мин и через 2 часа 15 мин после операции. Изучены 4 группы животных: 1) ложнопериорированные (без перевязки сосуда), 2) ложнопериорированные с введением семакса, 3) инфаркт (перевязка левой коронарной артерии), 4) инфаркт (перевязка левой коронарной артерии) с введением семакса.

На светооптическом уровне обнаружены изменения структуры миокарда у животных после инфаркта, как получавших семакс, так и не получавших его: показано появление отдельных очагов некроза кардиомиоцитов, а также нейтрофилов в капиллярах и за их пределами. В двух группах крыс, получавших семакс отмечено расширение кровеносных капилляров. Эти данные согласуются с обнаруженным ранее ростом числа капилляров в группе ложнопериорированных крыс с введением семакса через 28 суток после операции.

На электронномикроскопическом уровне выявлено, что у ложнопериорированных животных сохраняется нормальная ультраструктура основных клеточных органелл, однако появляется много жировых капель, нередко большого размера. Повышенное

содержание жира в саркоплазме характерно для всех четырех опытных групп на этом сроке инфаркта. У животных после инфаркта отмечено просветление ядер, истончение пристеночного хроматина, появление митохондрий с просветленным матриксом, волнистым ходом крист, внутрикристными уплотнениями и плотными гранулами в матриксе. Аналогичные нарушения ультраструктуры митохондрий встречались в кардиомиоцитах крыс через 2,5 часа после инфаркта, однако, если на этом сроке применение семакса практически полностью предотвращало появление данных нарушений, то через 24 часа введение семакса лишь снижало частоту их встречаемости.

Таким образом, через 24 часа после инфаркта в левом желудочке сердца крыс протекают некротические процессы, сопровождающиеся значительными нарушениями ультраструктуры кардиомиоцитов. Семакс на данном сроке не оказывает выраженного защитного действия на миокард.

**Анализ состава редких и исчезающих видов птиц заповедника
«Белогорье»**

Харькова Ольга Юрьевна

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: olga-kharkova@yandex.ru

Работа проводилась в течение 8 полевых сезонов с 1998 по 2005 гг. на территории ГПЗ «Белогорье». Использовались также опубликованные материалы предшествующих исследователей.

Цель исследования – проанализировать динамику состава редких и исчезающих видов птиц заповедника «Белогорье», выявить их категорию и статус.

Заповедник «Белогорье» общей площадью 2131 состоит из пяти заповедных участков: «Лес на Ворскле», «Острасевы яры», «Стенки Изгорья», «Ямская степь», «Лысые горы», к нему примыкает природный парк «Айдарский». Заповедные участки разбросаны по всей территории Белгородской области.

На территории Белгородской области насчитывается около 290 видов птиц, к категории редких и исчезающих может быть отнесено 67 видов.

"Лес на Ворскле" – из 156 видов встречающихся на территории заповедного участка 10 (орел-карлик, кобчик, балобан и др.) видов птиц занесены в Красную книгу России, 10 (малая выпь, серый журавль,

клинтух и др.) – в Красную книгу Белгородской области и 14 – включены в приложение к Красной книге Белгородской области.

"Острасьевы яры" – на территории заповедного участка встречаются 97 видов: 3 (орлан-белохвост, балобан и кобчик) вида занесены в Красную книгу России, 1 (белый аист) – в Красную книгу Белгородской области и 7 – включены в приложение к Красной книге Белгородской области.

"Ямская степь" – на территории заповедного участка встречаются 202 вида. Из них 19 видов птиц занесены в Красную книгу России, 12 – в Красную книгу Белгородской области и 16 – включены в приложение к Красной книге Белгородской области. К началу XXI века 3 вида: дрофа, сизоворонка и домовый сыч исчезли с территории заповедного участка.

"Лысье горы" – на территории заповедного участка встречаются 152 вида птиц. Из них 7 видов занесены в Красную книгу России, 9 – в Красную книгу Белгородской области и 12 видов включены в приложение к Красной книге Белгородской области. Только здесь во время зимних кочевков встречается беркут.

"Стенки Изгорья" – орнитофауна заповедного участка представлена 116 видами. В разряд видов занесенных в Красную книгу России обитающих на этом участке входят орел-карлик, змеяяд, степной лунь, кобчик. В Красную книгу Белгородской области занесены встречающиеся здесь серый журавль, белый аист, сплюшка, козодой, малая мухоловка. Также здесь обитают 11 видов птиц, рекомендованных к охране на данной территории.

"Айдарский" – на территории участка обитает 124 вида птиц. В Красную книгу России занесены 12 видов, среди них дрофа, которая гнездится преимущественно на степных территориях этого участка. В Красную книгу Белгородской области занесены 7 видов и 8 рекомендованы к охране как уязвимые и снижающие численность виды.

Некоторые структурные аспекты транспорта ионов хлора в корне соленакапливающего галофита *Suaeda altissima*.

*Халилова Л.А. *, Куркова Е.Б., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В.*

*Аспирант

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва,
Россия

E-mail: Lhalilova@mail.ru

Соленакапливающие галофиты аккумулируют Na^+ и Cl^- в значительно большей степени в надземных органах, чем в корнях. Поступив по градиенту электрохимического потенциала в клетки эпидермиса и коры

корня, они далее транспортируются в побег. В соответствии с традиционной точкой зрения, движение вверх, как этих ионов, так и биогенных элементов, происходит по ксилеме с транспирационным током воды. Считается, что движение веществ к ксилеме осуществляется от клетки к клетке по симпласту или трансмембранным путем. Наряду с транспортом ионов от клетки к клетке, рассматривается также возможность их движения по апопласту с гидравлическим током воды. Преодолев эндодерму, Na^+ и Cl^- оказываются в цитоплазме паренхимных клеток стели, откуда транспортируются в ксилему. Плазматические мембраны клеток эндодермы и паренхимных клеток стели, ответственные за ионный состав ксилемного сока, контролируют транспорт Na^+ и Cl^- наряду с транспортом биогенных элементов (K^+ , NO_3^- и PO_4^{3-}). При этом, катионные каналы, осуществляющие загрузку K^+ в ксилему, обладают относительно слабой дискриминирующей способностью по отношению к Na^+ , а анионные каналы, загружающие NO_3^- и PO_4^{3-} , слабой дискриминирующей способностью по отношению к Cl^- . Исходя из низкой селективности катионных и анионных каналов, мы предположили, что у соленакапливающих галофитов в корне происходит разделение потоков Na^+ и Cl^- , с одной стороны, и биогенных элементов, с другой, до того, как последние попадут в ксилему. Данная работа посвящена проверке этой гипотезы. С этой целью исследовали анатомию корня *S. altissima*, ультраструктуру клеток и распределение ионов Cl^- в тканях этого органа методом электронной и световой цитохимии. Проведенные эксперименты показали, что в клетках корня *S. altissima*, выращенной в водной культуре при оптимальной для роста концентрации NaCl (250 мМ), (1) ионы Cl^- локализуются преимущественно в коре и эпидермисе и в значительно меньшей степени в проводящих пучках и паренхиме стели; (2) Cl^- локализуется как в цитоплазме клеток коры и эпидермиса, так и в апопласте; (3) местами локализации Cl^- в апопласте являются клеточная стенка и периплазматическое пространство при отсутствии Cl^- в межклетниках; (4) Cl^- в клеточных стенках и периплазматическом пространстве концентрируется в отдельных узких зонах, тянущихся вдоль оси корня и переходящих от апопласта одной клетки к апопласту другой в местах контакта двух клеток своими торцами. Полученные данные приводят к предположению, что у соленакапливающего галофита *S. altissima* на уровне клеток коры корня происходит отделение потока Cl^- и, возможно, Na^+ , от потоков биогенных элементов, которые движутся к ксилеме. Последующая транслокация ионов Cl^- в восходящем направлении происходит не по элементам ксилемы, а по симпласту и апопласту клеток коры.

**Особенности флоры нижнего течения реки Махнех (притока
Казикумухского Койсу)**
Хизриева Аида Ильясовна

Аспирант
Дагестанский государственный университет
Биологический факультет
Махачкала, Дагестан, Россия

Флора Лакского района, как и в целом Дагестана, отличается богатством и разнообразием, что обусловлено особенностями климата и рельефа. Изучаемая флора представляет интерес с точки зрения расположения района, по территории которого проходит граница между известняковым и сланцевым Дагестаном.

На территории исследования произрастает 274 вида, относящихся к 180 родам и 56 семействам. Систематический анализ данной флоры показал, что отдел *Magnoliophyta* является преобладающим (271 вид), тогда как отделы *Polypodiophyta*, *Equisetophyta* и *Pinophyta* включает лишь по 1 виду. В спектре ведущих семейств *Asteraceae*-15.32%, *Fabaceae*-9.85, *Rosaceae*-7.29, *Lamiaceae*-6.93, *Poaceae*-5.83, *Caryophyllaceae*-5.47, *Scrophulariaceae*-3.64, *Boraginaceae*-3.28, *Campanulaceae*-3.28, *Apiaceae*-2.91. Преобладают ксерофильные семейства. Флора отличается высоким процентом эндемизма-20.8%. Данный процент вполне сопоставим с другими флорами Кавказа. Реликтовых видов насчитывается 31 с преобладанием третичных-13 видов.

Данные анализа биоморф выявляют доминирование гемикриптофитов-140 видов. Среди географических типов наиболее многочисленным является бореальный-135 видов, что составляет 49.3%. Результаты данных анализов типичны для флор Горного Дагестана. Распределение растений по фитоценотическим группам с доминированием луговой (28.84%), кустарниково-опушечной (22) и каменисто-осыпной (14.1) связано с преобладанием в районе территорий, занятых растительностью соответствующих типов.

Проведенный анализ флоры позволяет сделать вывод, что расположение района исследования на границе условного деления Дагестана на сланцевый и известняковый определяет своеобразие его флоры.

Изучение биоразнообразия и охрана степных видов в ботаническом саду ЯГУ

Холмогорова Ирина Лукинична

студентка

Якутский государственный университет им. М.К. Аммосова, Якутск,
Россия

E-mail: borisova@sitc.ru

По климатическим условиям Центральная Якутия является одной из резко-континентальных районов земного шара. Своеобразием якутской природы является распространение степной растительности, значительно удаленной от их основного ареала (сибирских и забайкальских степей). Степи встречаются отдельными островами, разбросанными среди тайги, занимая относительно большие площади в Центральной Якутии.

Развитие степной растительности на северо-востоке России шло на фоне резкой смены климата, что играло роль при развитии приспособительной структуры вида; степные виды содержат высокий адаптивный потенциал, который могут быть использованы в народном хозяйстве (лекарственные, кормовые, пищевые и декоративные растения). Степи Центральной Якутии находятся под антропогенным прессом и подлежат государственной охране; их фитоценозы нарушены, изменены по видовому составу, структуре, продуктивности. Одними из основных объектов природы, нуждающихся в принятии мер по защите и охране, являются участки ковыльных степей и степные фитоценозы с *Krascheninnikovia lenensis* (Kumin.) Tzvel. и *Artemisia obtusiloba* Ledeb. subsp. *martjanovii* Krasch. ex Poljak

На определенной стадии деградации восстановление степных фитоценозов становится возможным лишь с помощью интродукции степных видов. Наиболее широко представлены в коллекциях ботанического сада ЯГУ семейства Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Ranunculaceae. Их представители составляют 51,2% всего разнотравья. Видовое разнообразие характерно для родов *Allium*, *Astragalus*, *Oxytropis*, *Pulsatilla*, *Potentilla*, *Artemisia*.

Результаты интродукционного эксперимента показали перспективность культивирования этой группы растений. Среди жизненных форм интродуцентов выделены гемикриптофиты (61,9 %), хамефиты (16,5 %), геофиты (16,5 %) и однолетники (5,1 %). Наиболее устойчивой жизненной формой являются розеточные гемикриптофиты.

Для степей Якутии характерны весенне-летне-осеннезеленые растения с периодом зимнего покоя и весенне-летнезеленые растения с периодом

осенне-зимнего покоя. Наиболее устойчивы в культуре формы с весенне-летним феноритмотипом.

**Молекулярные механизмы реверсий к ts^+ фенотипу
холодоадаптированных штаммов вируса гриппа А - доноров
аттенуации для производства живых гриппозных реассортантных
вакцин**

*Цфасман Татьяна Михайловна, Маркушин Станислав Георгиевич,
Акопова Ирина Ивановна, Коптяева Ирина Борисовна, Гендон Юрий
Захарович*

Студентка

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

tanya.tsfasman@gmail.com

Получение холодоадаптированных (*ca*) реассортантов - кандидатов в вакцинные штаммы производится путём скрещивания *ca* мастер-штамма - донора аттенуации и эпидемического штамма вируса гриппа. Генетическая стабильность *ca* мастер-штаммов имеет очень важное значение для поддержания температурочувствительного (*ts*) и холодоадаптированного (*ca*) фенотипа реассортантов. Ранее показано, что *ts* фенотип мастер штаммов, необходимый для их аттенуации, поддерживается рядом мутаций в генах, кодирующих внутренние белки вируса. Большое значение приобретает выяснение молекулярных механизмов реверсий *ca* штаммов к температурорезистентному (ts^+) фенотипу.

Для исследования этих механизмов путём пассажей в куриных эмбрионах при постепенном повышении температуры получен ts^+ ревертант *ca* штамма А/Ленинград/134/47/57(H2N2) - донора аттенуации для живых гриппозных реассортантных вакцин, утерявший *ts* и *ca* фенотип. Генетическое исследование ts^+ ревертанта с помощью комплементационно-рекомбинационного теста с использованием одноударных *ts* мутантов вируса чумы птиц (ВЧП) обнаружило утрату фенотипического проявления *ts* мутаций в РНК-сегментах генома ts^+ ревертанта, кодирующих белки PB2, NP, NS (NS2). Однако исследование стабильности мутаций в геноме ts^+ ревертанта с помощью ПЦР-рестрикционного метода выявило лишь одну истинную реверсию в РНК-сегменте генома, кодирующем белок PB2. Кажущееся несоответствие данных, полученных двумя разными методами можно объяснить тем, что при реверсии *ca* штаммов вируса гриппа реверсия *ts*

фенотипа отдельных генов наблюдается значительно реже за счёт прямой реверсии мутации, но чаще в результате интра- или экстрагенной супрессии, что подтверждается предварительными данными по секвенированию ревертанта, говорящими о наличии 4 кодирующих мутаций в NS и M генах. Оценка генетической стабильности вакцинных *sa* штаммов вируса гриппа должна основываться на сохранности известных *ts* мутаций в отдельных РНК-сегментах генома данного *sa* штамма и на анализе фенотипического проявления *ts* мутаций в индивидуальных генах с помощью комплементационно-рекомбинационного теста. Работа поддержана грантом РФФИ 04-04-49467а.

**Видовой состав и структура сообщества раковинных амёб озера
Светлое (Пензенская область)**

Цыганов Андрей Николаевич

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: andrei-tsy@rambler.ru

Мазей Юрий Александрович

научный сотрудник

Пензенский государственный педагогический университет им. В.Г.

Белинского

Исследован видовой состав и структура сообщества раковинных амёб заболоченного озера, расположенного в верховьях реки Суры. Обнаружен 51 вид раковинных амёб. Наибольшее видовое богатство отмечается на станциях, расположенных в пределах моховой сплавины (до 28 видов на стацию). В детрите на дне озера отмечено 22 вида, в детрите тростникового болота – 16 видов, в сообществе лесных мхов – 15 видов. Пять видов – *Arcella arenaria*, *A. hemisphaerica intermedia undulata*, *A. vulgaris*, *Centropyxis aculeata* и *Diffugia parva* встречены в 5 из 6 изученных биотопах. Однако 12 видов (или 23.5 % от общего видового богатства сообщества в озере) обнаружены только в одном биотопе.

По видовому составу сообщества раковинных амёб в пределах всего озера разделяется на 3 группы: детритные сообщества, сообщества лесных сфагнумов и сообщества сфагновой сплавины. Тем не менее, выделение дискретных видовых комплексов, соответствующих тому или иному биотопу, весьма проблематично по причине совместной встречаемости стено- и эврибионтов.

Сообщества в разных участках моховой сплавины также отличаются друг от друга таким образом, что можно выделить 3 варианта: лесное сообщество, сообщество открытой сплавины и сообщество залесенной сплавины. В пределах открытой сфагновой сплавины выявлена мелкомасштабная горизонтальная и вертикальная дифференциация, которая в основном обуславливается наличием в сфагнуме горизонтального градиента увлажненности и вертикального градиента освещенности. В сфагновых биотопах с глубиной увеличивается общая плотность раковин и видовое разнообразие.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант номер 04-04-48338).

Участие активных форм кислорода в прорастании пыльцы

Nicotiana tabacum L.

Чайкова Анна Владимировна

Студентка

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова,

Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: plantphys@biophys.msu.ru

Исследования последних лет показали, что действие активных форм кислорода (АФК) связано не только с повреждением и гибелью клеток, но и с запуском ростовых процессов. В задачи работы входило выявить участие АФК в прорастании пыльцевого зерна. С этой целью изучали антиоксидантные функции его трифины (покровных материалов), накопление эндогенных, а также действие экзогенных АФК (H_2O_2) и антиоксидантов (аскорбиновой кислоты) на прорастание и накопление АФК в пыльцевом зерне табака. Прорастание оценивали по количеству проросших пыльцевых зерен в культуре *in vitro*, используя общепринятую питательную среду с pH 5,9. Накопление АФК выявляли по изменению интенсивности флуоресценции пыльцевых зерен, окрашенных $H_2DCF-DA$, в условиях импульсного облучения клеток ртутной лампой в диапазоне 475-495 нм. Съемку проводили цифровой камерой AxioCam HRc, подсоединенной к микроскопу AxioPlan 2 imaging MOT (Zeiss). Интенсивность флуоресценции измеряли, используя пакет программ анализа изображения AxioVision 4.2 (Zeiss). Установлено, что скорость накопления эндогенных АФК зависит от состояния пыльцевого зерна. При переносе дегидратированной пыльцы в водную среду наблюдали быстрый выход величины флуоресценции на плато. В таких культурах прорастание не превышало 5%. Прорастание

предварительно увлажненной пыльцы за то же время составляло около 30%, а скорость накопления АФК существенно снижалась. Удаление покровных материалов увеличивало эту скорость, что свидетельствует об антиоксидантной функции покровных материалов.

Добавление в культуру перекиси водорода в диапазоне концентраций 0,001-0,1 мМ не влияло на прорастание, 0,5 мМ H_2O_2 снижало его до уровня менее 10%, а концентрации ≥ 1 мМ полностью ингибировали прорастание. С этими результатами согласуются данные по накоплению АФК: добавление H_2O_2 в концентрации $\geq 0,1$ мМ значительно сокращало время выхода на плато величины интенсивности флуоресценции. Внесение в культуру 0,1 мМ аскорбиновой кислоты активировало прорастание в 1,4 раза ($p < 0,01$). При увеличении концентрации до 5 мМ наблюдалось существенное подавление прорастания. Вместе с тем, добавление аскорбиновой кислоты увеличивало время выхода величины интенсивности флуоресценции на плато.

Таким образом, обнаружено антиоксидантное действие трифины и выявлены корреляции между частотой прорастания и накоплением АФК в пыльцевых зернах под действием света: перекись водорода подавляла прорастание и стимулировала накопление АФК, аскорбиновая кислота в низких концентрациях оказывала обратный эффект, т.е. антиоксидантное действие.

**Исследование функционального состояния иммунитета у студентов
из КНР при адаптации к холодо-гипокси-гиперкапническому
воздействию (ХГВ)**

Чжао Сяожун

студент

Санкт-Петербургский государственный университет, Биолого-
почвенный факультет, Кафедра общей физиологии, Санкт-Петербург,
Россия

E-mail: xr_zhao@mail.ru

Важной характеристикой любой регуляторной системы, помимо её специфической функции, является способность оказывать влияние на реактивность организма в ответ на изменяющиеся условия среды. В формировании реактивности организма участвуют различные отделы нервной системы, в том числе симпатический отдел автономной нервной системы (Richalet, 1990). В зависимости от функционального состояния нервной системы изменяются реакции сердечно-сосудистой системы (ССС) на воздействия факторов внешней среды и

резистентность к ним. Технология ХГВ (патент РФ № 216147 от 10.01.2001), имитирующая “ нырятельный рефлекс” в связи с погружением лица в воду определенной температуры, может быть использована для диагностики адаптационного потенциала и резистентности к неспецифическим воздействиям (Январёва и др., 2000). Значение состояния иммунной системы для реактивности и резистентности ССС в настоящее время изучено мало, имеющиеся данные очень противоречивы. В настоящем исследовании по характеру изменения сердечного ритма при погружении лица в воду выявлены различные типы реагирования на ХГВ у студентов из КНР (n=14): высокореактивный, реактивный, ареактивный, парадоксальный. Проведена оценка базальной и стимулируемой митогенами активности Т-лимфоцитов периферической крови у испытуемых до и после 3-недельной адаптации к ХГВ. Использован капиллярный тест торможения миграции лейкоцитов с помощью конканавалина А и фитогемагглютинина. Обнаружена достоверно более высокая исходная подвижность лейкоцитов у “реактивных” лиц, которая после адаптации к ХГВ снижается; у “ареактивных” и “парадоксальных” испытуемых этот показатель не изменяется. Цитокинпродуцирующая активность Т-лимфоцитов у “ареактивных” и “парадоксальных” лиц исходно низкая, после адаптации к ХГВ возрастает. Использование технологии ХГВ в течение 3 недель, приводя к повышению устойчивости к гипоксии, нормализует двигательную активность лейкоцитов у “реактивных” испытуемых и увеличивает цитокинпродуцирующую активность лимфоцитов у “ареактивных” и “парадоксальных” испытуемых. Таким образом, функциональное состояние лейкоцитов может отражать особенности реактивности ССС на ХГВ.

Действие активных форм кислорода на квантовую секрецию медиатора в нервно-мышечном соединении мышцы

Шакирзянова А.В.¹, Науменко Н.В.², Гиниятуллин Р.А.³

¹младший научный сотрудник, ²ассистент, ³профессор

¹Казанский Институт Биохимии и Биофизики КНЦ РАН, Казань, Россия

^{2,3}Казанский Государственный Медицинский Университет, Казань, Россия

E-mail: nastyas@mail.ru

Активные формы кислорода (АФК) участвуют в ряде физиологических, а также патологических процессов в организме. Имеются также данные о том, что АФК играют заметную роль в функционировании нервной

системы. Вместе с тем, специфические механизмы, опосредующие эффекты АФК, остаются практически неизученными. Целью нашей работы было исследовать молекулярные механизмы действия АФК на синаптическую передачу в периферическом синапсе.

Эксперименты проводились на препаратах диафрагмы мыши с использованием стандартной микроэлектродной техники. Исследуемые вещества подавались к мышце как с перфузионным раствором, так и с помощью стеклянной микропипетки, непосредственно к синаптической области.

Одной из АФК, синтезируемых эндогенно, является перекись водорода (H_2O_2). Было показано, что H_2O_2 (300 μM) угнетает спонтанную квантовую секрецию ацетилхолина. Так, апплицируемая локально H_2O_2 обратимо снижала частоту миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) мыши, на $36 \pm 7\%$ ($P < 0.05$, $n=7$). Угнетающий эффект H_2O_2 при этом, был полностью пресинаптическим, так как амплитуда спонтанных сигналов оставалась неизменной. Прооксидант $FeSO_4$ (100 μM) в наших экспериментах усиливал эффект H_2O_2 . Снижение частоты МПКП при аппликации H_2O_2 в присутствии $FeSO_4$ составило $85 \pm 4\%$ ($P < 0.05$, $n=5$), что указывает на дополнительный эффект образующегося при этом гидроксил радикала.

Чтобы определить, связан ли эффект H_2O_2 с влиянием на кальциевые каналы, или с непосредственным действием на аппарат экзоцитоза, проводились эксперименты с локальной аппликацией высокоселективного кальциевого ионофора иономицина. Иономицин (5 μM), апплицируемый в течение 1-2 мин, вызывал резкое многократное увеличение частоты МПКП, которая возвращалась на исходный уровень к 10-20 мин после прекращения подачи ионофора. Повторная аппликация в контрольных экспериментах приводила к такому же увеличению спонтанной секреции. H_2O_2 вызывала достоверное снижение частоты МПКП в этих условиях (на $28 \pm 2\%$; $P < 0.05$, $n=4$). Так как иономицин усиливает квантовую секрецию медиатора независимо от кальциевых каналов нервного окончания, наши результаты предполагают, что угнетающее действие H_2O_2 связано с влиянием на конечные этапы процесса экзоцитоза, следующие за входом кальция в терминаль.

Влияние системы регуляции азотного обмена на биосинтез сериновых протеиназ *Bacillus intermedius* в клетках *B.subtilis*
Шамсутдинов Т.Р., Каюмов А.Р., Сабирова А.Р., Шарипова М.Р.
аспирант

¹Казанский государственный университет, Казань, (Россия)
E-mail: Talgat_saby@mail.ru

Эффективный метаболизм бактериальной клетки поддерживается за счет строго регулируемого баланса процессов анаболизма и катаболизма. Катаболизм служит для обеспечения микроорганизмов энергией и питательными веществами, необходимыми для анаболизма – источниками углерода, азота, серы, фосфата. Активация биохимических путей биосинтеза макромолекул возможна только в том случае, если доступны необходимые субстраты. Поэтому в процессе эволюции бактерии выработали механизмы, позволяющие координировать процессы метаболизма в зависимости от доступности различных питательных веществ. Долгое время исследования были посвящены изучению механизмов регуляции экспрессии генов, вовлеченных в различные ветви метаболизма. Регуляторная взаимозависимость разных путей метаболизма совсем недавно стала объектом пристального внимания. Например, утилизация аминокислот, которые служат источником углерода и азота, находится под контролем азотной и углеродной сигнальных систем. Установлено, что на углеродный метаболизм оказывает влияние система азотной регуляции. При недостатке азота клетками активно секретятся ферменты ассимиляции азотсодержащих соединений. При этом присутствие в среде ионов аммония резко подавляет их биосинтез.

Представляло интерес выяснить, влияет ли система регуляции азотного обмена (NrgB-регуляторный белок) на синтез внеклеточных сериновых протеиназ *B.intermedius* (субтилизиноподобной протеиназы и глутамилэндопептидазы) рекомбинантными штаммами *B.subtilis*, несущими плазмиды с генами соответствующих ферментов. Установлено, что в рекомбинантном штамме *B.subtilis*, мутантном по белку-сенсору NrgB, при росте на богатой среде продуктивность субтилизиноподобной протеиназы возрастает в 3 раза по сравнению с контрольным штаммом. В то же время эта мутация не влияет на синтез другой сериновой протеиназы, глутамилэндопептидазы. Рекомбинантные штаммы выращивали на синтетической среде, где источниками азота служили хлорид аммония или нитрат натрия. На среде с аммонием уровень биосинтеза субтилизиноподобной

протеиназы контрольным штаммом был вдвое ниже, чем на среде с нитратом. В штамме с дефектным белком NrgV природа источника азота не оказывала влияния на синтез глутамилэндопептидазы. Уровень продуктивности рекомбинантных штаммов в отношении глутамилэндопептидазы не зависел от источника азота. На основании полученных данных сделано заключение, что биосинтез одной из сериновых протеиназ, а именно субтилизиноподобной протеиназы находится под контролем системы азотного обмена.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ грант 05-04-48182-а.

Комплексный подход к терапии асцитной гепатомы Зайделя с использованием антиоксидантов.

Шаталин Юрий Викторович, Шубина Виктория Сергеевна

аспирант

Пушинский государственный университет, ИТЭБ РАН, г. Пушкино,
Россия.

e-mail: it@rambler.ru

Использование антиоксидантов в качестве одного из компонентов комплексной терапии новообразований является перспективным направлением в химиотерапии. Была исследована возможность использования в качестве антиоксидантов гипоксена, дурухинона, дигидрохверцетина, токоферола и аскорбата.

Объектом исследования стали крысы линии Вистар с трансплантированной в брюшную полость гепатомой Зайделя. В ходе развития опухоли анализировались общее самочувствие подопытных животных, средняя продолжительность жизни опухоленосителя, процент излеченных животных, прирост и клеточный состав асцитной жидкости и другие параметры. На основании исследований по изменению уровня РФК в зоне роста опухоли и изучению соотношения фагоцитирующих/опухолевых клеток было предложено использовать комплексную терапию с использованием некоторых прооксидантов и вышеперечисленных антиоксидантов. Были подобраны оптимальные концентрационные и временные соотношения про/антиоксидантов, позволившие увеличить продолжительность жизни опухоленосителя до 40-75% при использовании чистых препаратов токоферола, аскорбата натрия, дурухинона и дигидрохверцетина. При использовании комплексного подхода к терапии опухоленосителя данными антиоксидантами с некоторыми прооксидантами продолжительность

жизни опухоленосителя увеличивалась до 150% и более, вплоть до полного исцеления. Обнаружено, что резкое увеличение объема асцитной жидкости происходило при применении прооксидантов быстрее, но при этом экспериментальные животные дольше контрольных сохраняли свою активность. Процесс полного исцеления наблюдался только у животных, подвергшихся комплексной терапии (25-40%), при этом на 15-20 сутки после трансплантации опухоли происходило сокращение объема асцитной жидкости в течение 2 дней, на 60 сутки анализировали клеточный состав в зоне брюшной полости. Работа поддержана тематическим планом федерального агентства по образованию грантами CRDF №RUB2-010001-RU-05 и РФФИ

Флуориметрическое определение образования активных форм кислорода в пленках эпидермиса из листьев гороха

Шестак А.А., Булахов А.В.

аспирант, студент каф. физиологии микроорганизмов биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоноова

E-mail: ann-shestak@mail.ru

Мы определяли H_2O_2 в клетках растений методом флуориметрии дихлорфлуоресцеина (DCF), образующегося в результате H_2O_2 – зависимого окисления чувствительного к H_2O_2 красителя 2',7'-дихлорфлуоресцеина. Менадион восстанавливаясь фотосистемой II, *b₆f*-цитохромным комплексом и фотосистемой I хлоропластов, а также митохондриальной NADH: убинон-оксидоредуктазой, окисляется O_2 с образованием $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 . Рост флуоресценции DCF в пленке эпидермиса из листьев гороха, индуцированный менадионом, подавлялся нитросиним тетразолием (НСТ), окисляющим $O_2^{\cdot-}$ с образованием кристаллов формазана и тем самым предотвращающим образование H_2O_2 . Акцепторы электронов *n*-бензохинон (БХ), 2,6-дихлорфенолиндофенол (ДФИФ) не вызывали образование флуоресцирующего красителя. Восстановленные формы этих соединений не окисляются O_2 с образованием H_2O_2 . Салицилгидроксамат (СГ), сам по себе вызывал образование АФК, но не изменял или незначительно увеличил менадион зависимое свечение DCF. СГ является ингибитором альтернативной оксидазы. Пропилгаллат (ПГ) подавлял и предотвращал образование флуоресцирующего красителя в пленках эпидермиса под действием менадиона. В реализации ПКС может участвовать синглетный кислород

($^1\text{O}_2$). Бенгальский розовый (БР) – реагент, генерирующий $^1\text{O}_2$ при освещении белым светом. В комбинации с NADH он вызывал образование O_2^- и H_2O_2 . НСТ замедлял и затем подавлял флуоресценцию DCF, вызванную БР и NADH.

Полученные данные показывают, что генерация АФК происходит при участии хлоропластов и митохондрий в результате действия менадиона в эпидермисе из листьев гороха. АФК, образованные при участии электронтранспортных цепей, по-видимому, встречают затруднения с их доставкой к участкам их реализации в программируемой гибели клетки: O_2^- не может самостоятельно проникать через мембраны, H_2O_2 подвергается разложению при участии каталаз и пероксидаз.

**Виброакустическая коммуникация полужесткокрылых подотряда
Pentatomomorpha европейской части России.**

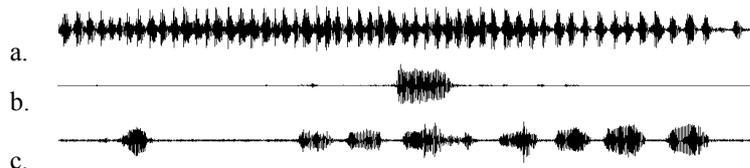
Шестаков Л.С.

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: zicrona@yandex.ru

Полужесткокрылые (Heteroptera) - один из крупных отрядов насекомых. Изучению виброакустической коммуникации клопов посвящены исключительно зарубежные работы. До настоящего времени изучение сигналов клопов с территории России и сопредельных государств не проводилось. Для регистрации сигналов использовали пьезокристаллический адаптер; запись производили на компьютер через согласующий усилитель. Зарегистрированы сигналы 20 видов, из них сигналы 8 представителей *Pentatomomorpha* (*Pitedia pinicola*, *Holcostethus vernalis*, *Pentatoma rufipes*, *Picromerus bidens*, *Troilus luridus*, *Spathocera laticornis*, *Zicrona caerulea*, *Pyrrhocoris apterus*) описаны впервые. Показано, что сигналы обладают видоспецифическими частотными и амплитудно-временными характеристиками. Сходные по амплитудно-временной структуре сигналы, относящиеся к одному функциональному типу, могут хорошо различаться частотной модуляцией. Нами выделены следующие типы сигналов: конкурентные, призывные и сигналы ухаживания (рис.).



Осциллограммы сигналов *Carpocoris fuscispinus* а) конкурентного, б) призывного и в) ухаживания. На всех осциллограммах представлен фрагмент сигнала длительностью 5 с.

Исследование роли Na^+/H^+ -обмена в регуляции рН цитоплазмы нейрона

Шпак Василиса Владимировна

Студент

Московский государственный университет им. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра биофизики.

foxamax@rambler.ru

Известно, что ионы натрия, калия, кальция и анионы хлора играют важную роль в формировании электрической активности нейрона. Однако, роль изменений рН цитоплазмы нейрона при возбуждении исследована мало. Одним из механизмов поддержания внутриклеточного рН является Na^+/H^+ -обмен. Очевидно, что функционирование данного переносчика зависит как от рН буферных систем клетки (митохондрия), так и обмена ионов кальция на протоны на плазматической мембране нейрона. Для оценки изменения активности этих параметров в процессе регуляции внутриклеточного рН исследовали изменения содержания ионов кальция, связанных с плазматической мембраной, а также уровень внутриклеточного рН и изменений потенциала внутренней мембраны митохондрии. Исследование проведено с помощью флуоресцентной зондовой микроскопии отдельных клеток и клеток в составе ганглия, используя в качестве флуорофоров хлортетрациклин (ХТЦ), флуоресцеиндиацилат (ФДА) и родамин 123(Rh123). Для оценки вклада в исследуемые процессы Na^+/H^+ -обмена активность переносчика блокировали 5-[N-этил-N-изопропил]-амилоридом (ЭИПА). В ходе проведенного исследования установлено, что при действии ЭИПА внутриклеточный рН снижается, а концентрация ионов Ca^{2+} , связанных с мембраной, увеличивается. Очевидно, что Na^+/H^+ -обмен является важным

регулятором внутриклеточного рН, активность которого зависит от работы митохондрий и содержания неорганических ионов в цитоплазме. Известно, что ионы кальция играют важную роль, запуская каскад физиологически важных реакций. Выявленные в настоящем исследовании взаимосвязи между рН - регулирующими процессами на плазматической мембране и в субклеточных органеллах нейрона свидетельствуют о новых возможностях в формировании возбудимости (генерация ПД и ритмической активности) нейронов.

Исследование субстратной специфичности нейраминидазы вирусов гриппа новым флуоресцентным методом

Штыря Юлия Александровна

аспирант

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской Академии Наук, РАН, Москва, Россия

E-mail: saj1@yandex.ru

На поверхности вируса гриппа находятся два гликопротеина, гемагглютинин (НА) и нейраминидаза (NA). В то время как олигосахаридная специфичность НА хорошо изучена, субстратная специфичность NA исследовалась мало.

В нашей лаборатории разработан чувствительный флуоресцентный метод определения субстратной специфичности нейраминидаз, основанный на использовании сialiлолигосахаридов, меченных BODIPY. Количество продукта и исходного субстрата реакции определяется флуориметрически [Mochalova et al., 2005 Anal.Biochem341: 190-193]. Высокая чувствительность метода позволяет работать с низкими концентрациями как субстратов (10^{-11} моль), так и вирусов. Благодаря высокой достоверности (больше 95%) и хорошей воспроизводимости (98%) и возможности все операции проводить одновременно в 96 лунках, появляется возможность изучать кинетические характеристики фермент-субстратного взаимодействия. Субстратная специфичность нейраминидаз рассчитывается как кинетический параметр V_{max}/K_M , который определяется из начального прямолинейного участка кинетической кривой $V_0=f(S_0)$.

Мы определили субстратную специфичность NA нескольких вирусов гриппа. В качестве субстратов были использованы шесть BODIPY-меченых олигосахаридов, содержащих α 2-3 или α 2-6 связанную нейраминовою кислоту (Neu5Ac). Все эти олигосахариды хорошо известны как рецепторы НА разных вирусов гриппа:

Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4Glc-sp-BODIPY	3'SiaLac
Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc-sp-BODIPY	3'SiaLacNAc
Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3GlcNAc-sp-BODIPY	SiaLe ^C
Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3 (Fuc α 1-4) GlcNAc-sp-BODIPY	SiaLe ^A
Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4Glc-sp-BODIPY	6'SiaLac
Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4GlcNAc-sp-BODIPY	6'SiaLacNAc

Все исследованные вирусы десиазировали α 2-3 субстраты (первые четыре) лучше, чем α 2-6 (пятый и шестой), наибольшее различие наблюдалось для вирусов уток, а наименьшее для вирусов человека. При этом, наиболее сильные различия между вирусами наблюдались при десиазировании субстрата SiaLe^A, в частности вирусы гриппа уток десиазировали его в 2 раза хуже других α 2-3 субстратов, а вирусы свиней – в 20 раз.

Таким образом, впервые проведена количественная оценка субстратной специфичности нейраминидаз вирусов гриппа по отношению к шести сиалилолигосахаридам и выявлены различия в субстратной специфичности вирусов гриппа различного происхождения.

Сравнительное исследование подвижности нормальных и трансформированных фибробластов. Роль актин-миозинового сокращения.

Шутова Мария Сергеевна

студент

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: masha_shutova84@mail.ru

Задачами настоящей работы являлось выяснение роли полимеризации актина и актин-миозиновых взаимодействий в движении нормальных и gas-трансформированных фибробластов (линия REF52tetRas). Были рассмотрены такие характеристики подвижности как распластывание клеток на плоском адгезивном субстрате и миграция клеток в экспериментальную рану. Для подавления миозин II-зависимой сократимости были использованы ингибиторы Y27632 и блебистатин. Полимеризация актина на краю клетки подавлялась низкими дозами цитохалазина Д и латрункулина.

Было показано, что трансформация, вызванная экспрессией N-Ras, приводит к значительному снижению площади клеток, а также к уменьшению количества и размеров актин-миозиновых пучков и фокальных контактов. При этом своей максимальной площади

распластывания на субстрате трансформированные клетки достигали за то же время, что и контрольные. При направленном движении в рану за 24 часа трансформированные клетки выползали существенно дальше, чем нормальные (в 1,4 раза).

Действие на клетки ингибиторами сократимости приводило к полному исчезновению актин-миозиновых пучков и зрелых фокальных контактов. Площадь таких клеток практически не изменялась. При этом распластывание в присутствии ингибиторов происходило значительно быстрее, чем в контроле. Скорость и эффективность миграции в рану также значительно увеличивалась по сравнению с контролем – выползало большее количество клеток (в 1,2-1,4 раза), и дальность их миграции увеличивалась в 1,5 раза. Обработка трансформированных клеток ингибиторами сократимости не приводила к существенному увеличению эффективности миграции.

Обработка низкими дозами цитохалазина Д или латрункулина приводит к исчезновению тонкой актиновой сети на краю клетки, соответствующей ламеллиподии (иммунофлуоресцентная окраска). При этом наблюдалось дозозависимое снижение миграционной способности вплоть до полной остановки движения (при концентрации латрункулина 4 мкмоль/мл).

Наши данные показывают, что актин-миозиновое сокращение не является определяющим фактором клеточного движения, в частности направленной клеточной миграции, тогда как важнейшую роль в процессах подвижности играет полимеризация актина в зоне ламеллиподии.

Анализ полиморфизма гена транспортера серотонина у группы спортсменов.

Щеголькова Ю.В., Тимофеева М.А., Малюченко Н.В., Тоневецкий А.Г.

Московский Государственный Университет им. Ломоносова
Биологический факультет
Москва, Россия
yuliabio@rambler.ru

Психологические характеристики являются комплексными и гетерогенными параметрами, которые сложно разбить на генетически детерминированные составляющие. В основе психологических типов лежит так называемое «чувство времени»; способность к оценке времени может быть детерминирована генами медиаторов нервной

системы, нейрогормонов, их транспортеров и рецепторов. Наиболее значимые полиморфные варианты описаны в генах транспортера серотонина, катехол-о-метил-трансферазы, дофаминавого рецептора D4 и моноамин-оксидазы А.

В рамках настоящей работы изучали полиморфизм гена транспортера серотонина (5HTTLPR). Описан полиморфизм гена 5-ННТ, связанный с делецией/вставкой 44 н.п. в промотере. В популяции частота длинного аллеля около 57%, а короткого 43%. Было обследовано 80 спортсменов, занимающихся синхронным плаванием. В группе аллели I и D были представлены с частотой 0,6 и 0,4, соответственно. Обследование сопровождалось психологическим тестированием. Первичное сопоставление по показателям тэппинг-теста и полиморфизму гена 5HTTLPR выявили различия групп с разными генотипами. Эти параметры и разница между ними сравнивались между группами с помощью Т-критерия Стьюдента для независимых выборок. Значимо различаются DD и II группы по показателю разницы между удобным и максимальным темпом выполнения задания (41.3 и 23.8, $t(17)=3.01$, $p=0.008$), есть тенденция к различию этого параметра и между группами ID и DD (27.9 и 41.3, $t(13)=1.88$, $p=0.08$). Этот показатель отражает способность увеличить скорость выполнения задания, мобилизовать ресурсы своего организма в критической ситуации.

Была выявлена корреляция между генотипом 5HTTLPR и скоростными характеристиками спортсменов. Результат имеет практическое значение, т.к. нарушения восприятия времени возникают при многих потенциально генетически обусловленных заболеваниях. Немаловажно восприятие времени в спорте и других ситуациях, требующих быстрого реагирования.

Частоты встречаемости аллелей *1В и *2 гена цитохрома P450 3A4 (CYP3A4) и их влияние на активность фермента

Щепотина Елена Георгиевна

младший научный сотрудник

Институт Молекулярной Биологии и Биофизики СО РАН,

Новосибирск, Россия

E-mail: elena_shchepotina@rambler.ru

Подсемейство CYP3A составляет около 30% от общего количества CYP печени и осуществляет метаболизм различных соединений. CYP3A включает CYP3A4, 3A5, 3A7 и 3A43, субстратная специфичность которых отчасти перекрывается, поэтому характер экспрессии в органах

и ее особенности в онтогенезе позволяют предположить, что у взрослого человека существенный вклад в метаболизм соединений вносит CYP3A4. Наблюдается полиморфное распределение активности фермента и экспрессии гена в тканях печени и тонкого кишечника индивидов в разных популяциях, превышающее 40-кратные различия, причины такого разнообразия не определены. Проведен анализ вариантов последовательностей гена *CYP3A4* у здоровых европеоидов Западной Сибири, исследованы частоты встречаемости функционально значимых аллелей *CYP3A4* *1*B* и *2, оценена связь с активностью фермента у их носителей, которую определяли по степени б β -гидроксилирования кортизола (б β ОНСL/СL), как показателя активности CYP3A. Аллелем *CYP3A4**1*B* обозначают мутацию -392A>G в регуляторной области гена *CYP3A4*, аллель связывают со сниженной активностью фермента и с предрасположенностью к заболеванию раком предстательной железы и лейкемии, некоторые исследователи не находят связи *1*B* с метаболическим полиморфизмом фермента. Аллелем *CYP3A4**2 обозначают мутацию с.664 T>C в 7 экзоне *CYP3A4*, ведущую к аминокислотной замене Ser222Pro, снижающей активность аллозима в отношении метаболизма нифедипина *in vitro* в 6-9 раз. Среди 76 человек обнаружены 6 гетерозигот и 1 мутантная гомозигота по аллелю *2, частота аллеля 5,26 %. Величина б β ОНСL/СL у индивида с генотипом *CYP3A4**2/*2 – 7.408, что в данной выборке соответствует фенотипу «медленного метаболизера», для гетерозигот б β ОНСL/СL не определено. Среди 40 человек обнаружены восемь гетерозигот по аллелю *1*B*, гомозигот не обнаружено, частота аллеля 11%. Нет основания полагать, что одна данная мутация в гетерозиготном состоянии вносит существенный вклад в формирование активности фермента в данной популяции, так как б β ОНСL/СL у носителей *CYP3A4**1/*1*B* составили 0.303, 1.369, 8.167, 14.555, 16.300, 28.458, 41.154 и 79.600, что указывает как на сниженные, так и на повышенные активности фермента (распределение б β ОНСL/СL в данной популяции от 0,276 до 85,000). Влияние на активность фермента, возможно, оказывают и другие факторы: факторы онтогенеза, а также другие мутации в регуляторных областях *CYP3A* и их генах-регуляторах, таких как PXR, CAR. Изучение связей генотип/фенотип необходимо для проведения эффективной лекарственной терапии в соответствии с генетическим статусом индивида.

Сенсibilизация к апоптогическому действию эстрадиола и активация митогенных путей в тамоксифен-резистентных клетках рака молочной железы.

Щербаков Александр Михайлович, Лобанова Ю.С., Герштейн Е.С., Красильников М.А.

МНС

ГУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва, Россия

scherba@yandex.ru

В метаболизме клеток молочной железы важную роль играют эстрогены, контролирующие активность ряда внутриклеточных белков. В ряде случаев при малигнизации клетки сохраняют зависимость от эстрогенов, являясь мишенью для терапии антиэстрогенами. Для лечения гормонозависимого рака молочной железы (РМЖ) применяется антиэстроген тамоксифен (Nolvadex, ICI 46474), но существуют формы РМЖ, резистентные к антиэстрогенам *de novo* или приобретающие гормональную резистентность в процессе терапии.

Эксперимент проводили *in vitro* на линии гормонозависимых опухолевых клеток РМЖ человека MCF-7 и новой тамоксифен-резистентной сублинии клеток MCF-7/T, полученной в результате длительного (2 мес.) культивирования клеточной линии MCF-7 в присутствии тамоксифена. Определение содержания исследуемых белков в клеточных экстрактах проводили вестерн-блоттингом. Концентрацию VEGF-A определяли с помощью стандартных наборов для иммуноферментного анализа («BioSource»)

В резистентных клетках MCF-7/T обнаружено повышение уровня экспрессии рецепторных тирозинкиназ VEGFR-2/KDR и EGFR и гиперпродукция фактора роста эндотелия сосудов (VEGF/VEGF-A) по сравнению с родительскими клетками. Базальный уровень VEGF в резистентной сублинии практически не изменяется в присутствии 17бета-эстрадиола или тамоксифена. Показано, что клетки MCF-7/T при продолжительном (4 мес.) культивировании в безгормональной среде приобретают чувствительность к апоптозу, индуцированному 17бета-эстрадиолом; эта сенсibilизация поддерживается дисбалансом между про- и антиапоптогическими сигнальными путями и проявляется позднее (вероятно, независимо от приобретения клетками способности к эстроген-независимому росту) и требует продолжительного периода культивирования клеток в безгормональной среде. Результаты позволяют рассматривать сенсibilизацию к эстрадиол-индуцированному апоптозу и активацию митогенных сигнальных путей

как независимые характеристики гормонорезистентных клеток РМЖ. Работа поддержана РФФИ (грант № 04-04-48458).

Сравнительное изучение молекулярной динамики антимикробных пептидов буфорина и магаинина

Щука Татьяна Витальевна¹, Терешкина Ксения Борисовна²

¹аспирант, ² ассистент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

E-mail: tatsina@moldyn.org

Антимикробные пептиды – важная группа широко распространенных и относительно простых по молекулярной структуре эндогенных веществ. Они кодируются геномом и продуцируются в ходе обычной транскрипции гена. Кроме антибактериального, некоторые пептиды проявляют фунгицидный и противовирусный эффекты, а также могут влиять на раковые клетки. Полагают, что эти катионные пептиды взаимодействуют непосредственно с биологическими мембранами, не нуждаясь в специфических рецепторах. Хотя механизм антимикробного действия этих пептидов остается до конца не выясненным, они считаются перспективными в решении нарастающей проблемы резистентности к антибиотикам [1].

В работе для изучения конформационных и динамических свойств антимикробных пептидов буфорина и магаинина используются методы молекулярной динамики [2,3]. Представлены результаты изучения МД буфорина и магаинина в столкновительной среде при температурах от 300К до 1000К. Обсуждаются особенности динамической структуры α -спиралей, а также значение подвижности различных аминокислотных остатков полипептидной цепи для биологической активности пептидов. Работа выполнена на кафедре биоинженерии биологического ф-та МГУ, научный руководитель работы профессор К.В.Шайтан. Работа поддержана Роснаукой, РФФИ (грант № 04-04-49645), Правительством Москвы и US CRDF.

Литература

1. Wang Z., Wang G. (2004) APD: An antimicrobial peptide database // Nucleic Acids Res. 32, D590-D592.
2. Шайтан К.В., Терешкина К.Б. Молекулярная динамика белков и пептидов. Методическое пособие. М.:Ойкос, 2004.-103с.

3. Shaitan K.V., Tereshkina K.B. (2005) Molecular Dynamics of Small Peptides Using Ergodic Trajectories In: BIOINFORMATICS OF GENOME REGULATION AND STRUCTURE II (N. Kolchanov and R.Hofestaedt, eds.), Springer Science+Business Media, Inc., pp. 271-284.

**Выделение и характеристика глицеральдегид-3-
фосфатдегидрогеназы из сперматозоидов человека**

Щуцкая Юлия Юрьевна, Элькина Юлия Леонидовна

студент, студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Биологический факультет Москва, Россия;

E-mail: ylk@mail@gmail.com, feigelle@gmail.com

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа в сперматозоидах (ГАФД-С) – изофермент, осуществляющий НАД-зависимое превращение глицеральдегид-3-фосфата в 1,3-дифосфоглицерат в ходе гликолиза. ГАФД-С отличается от соматической ГАФД наличием на N-конце Pro-обогащенного мотива из 72 аминокислот. Молекулярная масса мономера составляет 44,5 кДа в отличие от соматического фермента (36 кДа). Фермент локализован в участке жгутика и прочно связан с фиброзным слоем, участвуя в энергообеспечении движения сперматозоидов. Целью работы было выделение ГАФД-С из сперматозоидов человека и исследование ее свойств.

Из-за прочной сорбции на фиброзном слое ГАФД-С не экстрагируется в раствор при разрушении клеток ультразвуком; использовали протеолитическую обработку клеток трипсином, при которой фермент высвобождается в раствор, что подтверждается появлением дегидрогеназной активности в супернатанте при обработке осадка разрушенных клеток трипсином. Рост этой активности сопровождается увеличением интенсивности полосы с молекулярной массой 40 кДа (по данным Ds-Na электрофореза). Используя хроматографическую очистку на колонке с фенил-сефарозой, удалось выделить из трипсинового лизата сперматозоидов белок с молекулярной массой 40 кДа, обладающий дегидрогеназной активностью, на основании чего предполагается, что выделенный белок является ГАФД-С с незначительными примесями. Фермент проявляет максимальную активность при pH 8.0-9.0. Величина K_m для НАД составляет 42 ± 12 мкМ.

В препарате поликлональные антитела окрашивают незначительную примесь соматического фермента (36 кДа) и минорный белок (56 кДа).

Основная масса соматической ГАФД (36 кДа) обнаружена в растворимой фракции, полученной после разрушения клеток ультразвуком, что может свидетельствовать о присутствии соматической ГАФД в цитоплазме сперматозоидов.

По результатам анализа последовательности ГАФД-С на наличие сайтов расщепления трипсином, гидрофобная N-концевая последовательность должна отщепляться целиком; масса высвобожденного фермента должна составлять 35 кДа. Механизм высвобождения ГАФД-С из фиброзного слоя в ходе трипсинолиза не ясен и требует дальнейшего изучения.

Неэквивалентность активных центров транскетолазы по связыванию субстрата-акцептора.

Юршев Владимир Александрович

Аспирант

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: yurshevva@mail.ru

Транскетолаза - тиаминдифосфат-зависимый фермент, катализирующий реакцию расщепления кетозы (субстрата-донора) и перенос образующегося остатка гликолевого альдегида на альдозу (субстрат-акцептор). Помимо тиаминдифосфата, для проявления каталитической активности ферменту необходимы ионы двухвалентного металла. Транскетолаза – это гомодимер с двумя активными центрами, расположенными на границе между контактирующими поверхностями мономеров. Активные центры характеризуются одинаковой каталитической активностью. Сродство их к коферменту зависит от типа используемого в качестве кофактора катиона: в присутствии ионов кальция оно существенно выше, чем в присутствии ионов магния. Кроме того, в присутствии Ca^{2+} сродство тиаминдифосфата к активным центрам неодинаково: к одному из них оно, примерно, на порядок выше, чем к другому.

В работе исследовали сродство к транскетолазе субстрата-акцептора, рибозо-5-фосфата, определили для него значения K_m при постоянной концентрации субстрата-донора, ксилулозо-5-фосфата. Оказалось, что сродство рибозо-5-фосфата к одному из активных центров существенно более высокое, чем к другому, причем, вне зависимости от того, какой катион используется в качестве кофактора - Ca^{2+} или Mg^{2+} . Кроме того,

общее сродство рибозо-5-фосфата к транскетолазе значительно выше в присутствии Ca^{2+} , чем в присутствии Mg^{2+} .

Показано, что, как и в случае кофермента, активные центры транскетолазы неэквивалентны по связыванию субстрата-донора. Степень неэквивалентности, а также общее сродство субстрата-акцептора к ферменту, зависят от природы используемого катиона. Все это может иметь отношение к механизму регуляции каталитической активности транскетолазы.

Взаимное расположение хромосом в интерфазных ядрах первичных фибробластов человека с нормальным фенотипом и с полисомиями по X-хромосоме и хромосоме 18

Якутенко Ирина Игоревна, Петрова Наталья Валентиновна, Яровая Ольга Владимировна, Разин Сергей Владимирович

студент

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

E-mail: irina_yakutenko@list.ru

Согласно современным взглядам на архитектуру ядра хромосомы представляют собой компактные структуры, занимающие отдельные неперекрывающиеся области ядерного пространства, названные хромосомными территориями (ХТ). Организация хромосом в ХТ – не просто способ компактной упаковки больших объемов хроматина в ограниченном ядерном пространстве. Динамичная структура ХТ обеспечивает доставку нужных генов к системам транскрипции, репарации или сплайсинга; неактивные гены остаются компактно упакованными во внутреннем пространстве ХТ. Очевидно, что место локализации ХТ не случайно и связано с функциональной активностью генов соответствующей хромосомы. Однако общие закономерности, определяющие позицию каждой ХТ, остаются весьма туманными. Один из способов изучить данный вопрос, предложенный в нашей лаборатории, – сравнение локализации ХТ в ядрах клеток человека с нормальным фенотипом, и в ядрах полисомных клеток.

В данной работе методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) была изучена локализация центромерных хромосомоспецифичных α -сателлитных повторов 18, 1 и X в ядрах нормальных фибробластов и фибробластов с полисомиями по 18 и X хромосомам. Эти повторы были использованы как маркеры ХТ. Анализ полученных распределений

гибридизационных сигналов относительно центра ядра был осуществлен с помощью специально разработанной компьютерной программы, определяющей расстояние от гибридизационных сигналов до центра масс ядра. На основании полученных данных были сделаны выводы о распределении соответствующих ХТ. Обнаружено, что при появлении дополнительных копий Х-хромосомы распределение ее ХТ стремится к случайному равномерному распределению. По-видимому, это объясняется специфической природой Х-хромосомы: только одна из всех имеющихся Х-хромосом активна, остальные же инактивированы и, по-видимому, распределены случайно. Таким образом, искомым распределение активной Х-хромосомы может маскироваться случайным распределением неактивных копий. В отличие от Х-хромосомы распределение хромосомы 18 не изменяется при полисомии этой хромосомы. Кроме этого было обнаружено, что полисомия по 18 и Х-хромосоме не приводит к сколько-нибудь значительному изменению распределения хромосомы 1. Таким образом, было показано, что появление дополнительных копий некоторых хромосом не оказывает значительного влияния на общий порядок расположения ХТ.

Эндогенный и экзогенный факторы индукции андроклинии: цитогистологический аспект

Яловега Александр Викторович

студент

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

E-mail: kruglova@anrb.ru

В основе метода культуры изолированных пыльников лежит явление андроклинии (андрогенеза *in vitro*) - образования растения из морфогенетически компетентной спорогенной клетки пыльника через этап формирования эмбриоида или каллуса. Выявлены важнейшие факторы индукции андроклинии – эндогенный (состояние пыльника донорного растения) и экзогенный (воздействие холодом на пыльник перед инокуляцией на питательную среду). Цель работы – исследовать изменение цито-гистологического состояния пыльника донорного растения в ходе стрессового воздействия холодом. Объектом исследования послужила яровая мягкая пшеница линии Фотос. Пшеница характеризуется асинхронностью заложения и развития колосков по колосу, поэтому работу вели с пыльниками 2 нижних цветков 5 колосков средней трети колоса. Поскольку пыльники пшеницы характеризуются асинхронностью развития спорогенных

клеток, стадию развития считали наступившей, если превалирующее (не менее 70%) количество спорогенных клеток пыльника находилось на конкретной стадии развития. Максимальный выход андроклинных эмбриоидов и каллусов достигался при инокуляции пыльников, содержащих сильновакуолизированные микроспоры (СВМ). В них происходят дегенерация клеток тапетума и среднего слоя, кутинизация оболочек клеток экзотеция и формирование фиброзных утолщений в оболочках клеток эндотеция. Тем самым получил подтверждение выявленный на других генотипах яровой мягкой пшеницы факт, что именно стадия СВМ оптимальна для индукции андроклинии. Установлено, что при воздействии холодом (3-5^oС в течение 7 сут) в пыльниках происходит увеличение количества СВМ (до 90%) за счет перехода в эту стадию микроспор из предыдущей слабовакволизированной стадии. Начиная с 5 сут стрессового воздействия, в пыльниках отмечены двуклеточные структуры как результат равных митотических делений СВМ. Цито-гистологические исследования пыльников *in vitro* показали, что именно такие двуклеточные структуры дают начало андроклинным эмбриоидам или каллусам. Стрессовое воздействие холодом синхронизирует большинство микроспор в оптимальной стадии СВМ и снимает гаметофитную детерминацию в развитии СВМ, индуцируя равные митотические деления, аномальные по сравнению с неравными делениями СВМ в естественных условиях.

**Сравнительный анализ ядрышковых характеристик популяций
шорцев и европеоидов Сибири**

Ярунова Екатерина Николаевна

студент

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

E-mail: yarunova@interculture.ru

Минина Варвара Ивановна

научный сотрудник

Институт экологии человека СО РАН, Кемерово, Россия

Значение параметров ядер и ЯОР стали использоваться в качестве дополнительного диагностического теста при определении степени развития различных болезней, прогностических показателей стабильной фазы хронических заболеваний и эффективности их лечения. Также есть данные, свидетельствующие о возможности использования ядрышек в качестве биомаркеров токсических внешних воздействий. На

территории Кемеровской области располагается большое количество предприятий угольной, энергетической и металлургической промышленности, что приводит к накоплению в окружающей среде различных генотоксических ксенобиотиков. Такие экстремальные экологические факторы могут способствовать накоплению мутаций как среди коренного населения (шорцы), так и среди пришлого европеоидного населения Сибири.

Целью настоящего исследования стал сравнительный анализ ядрышковых характеристик популяций шорцев и европеоидов Сибири. Для выполнения поставленных задач нами были обследованы 65 шорцев, проживающих в поселке Усть-Анзас Кемеровской области и в качестве контроля 83 европеоида Кемеровской области (г. Кемерово, п. Крапивино, п. Ленинский). Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь, которая забиралась в асептических условиях в ходе экспедиции в 2004 г.

Для анализа осуществляли подготовку препаратов с использованием стандартного полумикрометода культивирования лимфоцитов. Изучение ядрышек проводили на препаратах ядер, окрашенных раствором азотнокислого серебра по методу Howell W.M, Black D.A, 1980 с некоторыми модификациями. На препаратах, приготовленных для каждого обследованного, было проанализировано по 100 ядер лимфобластов.

Согласно полученным данным количество ядрышек в лимфоцитах крови у шорцев достоверно меньше (1.74 ± 0.22), чем у европеоидов Кемеровской области (2.49 ± 0.46). Это свидетельствует о существовании этнической специфики в пространственной организации ядра. Можно заключить, что у шорцев большее количество хромосом, несущих рибосомные гены, оказываются сближенными в пространстве.

**Анатомия перикарпия представителей семейства *Nymphaeaceae*
Salisb.**

Яценко Игорь Олегович

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

Email: i_o_yatzenko@mail.ru

Семейство *Nymphaeaceae* остаётся в фокусе современных исследований в связи с проблемами его систематического положения, но не существует единого мнения о типе (или типах) плода *Nymphaeaceae*.

Плоды нимфейных относили к сочным синкарпным многолисткам или «губчатым ягодам».

Нами было проведено исследование и сравнение анатомического строения перикарпия у трех представителей разных родов этого семейства: *Nuphar luteum* Sibth. & Sm., *Nymphaea candida* J & S Presl, *Victoria amazonica* Sowerby.

Исследованные виды имеют общий план строения стенки плода. Перикарпий многослойный (40-50 слоев) дифференцированный на экзо-, мезо- и эндокарпий. Экзокарпий однослойный, представлен некрупными клетками с неравномерно утолщенными стенками. Мезокарпий дифференцирован на несколько зон: дистальная его часть представлена паренхимой или колленхимой, проксимальная – всегда аэренхимой. В мезокарпии имеются крупные астроклереиды, которые могут встречаться в разных топографических зонах и отличаться по форме. Эндокарпий однослойный, представлен некрупными клетками с несильно утолщенными клеточными стенками, на поперечном срезе имеющими прямоугольные очертания.

Для *Victoria amazonica* характерен наиболее многослойный перикарпий (45-50 слоев) и самая сложная дифференциация паренхимной части мезокарпия: 3 последовательно сменяющихся зоны, клетки аэренхимы имеют продолговатые расширенные к центру очертания, астроклереиды расположены в аэренхимной зоне. Перикарпий *Nuphar luteum* был изучен ранее. Он сложен меньшим числом слоев клеток (40-45). Для него характерен мезокарпий, дифференцированный на колленхимную, паренхимную и аэренхимную зоны с плавными переходами между ними, прямоугольные очертания клеток аэренхимы и астроклереиды, расположенные в этой зоне. Перикарпий *N. candida* имеет сходное с *N. luteum* число слоев и дифференцирован на такие же топографические зоны, но у него имеется резкая граница между паренхимой и аэренхимой. У представителей этого вида астроклереиды имеют неправильные звездчатые очертания и располагаются в толще колленхимной и паренхимной зон. По многим признакам строения перикарпия *N. candida* проявляет большее сходство с *V. amazonica*.

Исследования позволяют заключить, что изученные представители семейства *Nymphaeaceae* имеют общий план строения перикарпия, но отличаются рядом существенных деталей его структуры.

**Ультраструктурные изменения в нейронах неокортекса под
воздействием полидана**

Каптарь Виктория Сергеевна

аспирант 3-его года обучения

*Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия*

E-mail: victoria_kaptar@mail.ru

Препарат полидан выделяют из молок осетровых рыб и используют в онкологической практике в качестве стимулятора гемопоэза. На нескольких условно-рефлекторных моделях был показан и мнемотропный эффект полидана. Известно, что одной из основных структур, играющих ключевую роль в процессах обучения и памяти, является неокортекс. Чтобы понять, на каком структурно-функциональном фоне улучшается память, нами ранее было проведено светооптическое исследование состояния нейронов в разных слоях неокортекса необученных животных на фоне полидана и показано усиление синтетических процессов в этих слоях.

Цель настоящей работы - проведение ультраструктурного анализа состояния белоксинтезирующего аппарата пирамидных нейронов, митохондрий и нейропиля в V слое соматосенсорной области неокортекса крыс на фоне однократного или пятикратного внутривентрикулярного введения полидана (75 мг/кг).

При исследовании белок-синтезирующего аппарата в цитоплазме нейронов были обнаружены однонаправленные изменения, более выраженные при пятикратном введении препарата, которые свидетельствовали об активации синтетических процессов. Наблюдалось уменьшение количества свободных рибосом и увеличение числа рибосом, связанных с эндоплазматическим ретикуломом, а также увеличивалось число полисом и количество рибосом в одной полисоме.

Полидан вызывал изменения и в митохондриях. На фоне обеих схем применения полидана происходило просветление матрикса и разрушение крист. Однако, если при однократном введении эти изменения носили функциональный характер, то пятикратное введение препарата вызывало очень сильные разрушения митохондрий.

Ультраструктурные изменения под влиянием полидана были обнаружены не только в телах нейронов, но и в нейропиле. Так, на фоне однократного введения препарата наблюдалось образование новых отростков малого диаметра. Пятикратное применение полидана в неокортексе приводило к уменьшению количества профилей отростков среднего диаметра и в то же время увеличивалось количество профилей

отростков крупного диаметра. Важно подчеркнуть, что изменения в нейропиле, наблюдавшиеся на фоне пятикратного применения полидана, не сопровождались изменением общего числа отростков, тогда как при однократном введении препарата суммарное количество отростков увеличивалось, что говорит об их новообразовании.

Кроме того, на фоне обеих схем введения полидана происходило изменение оптической плотности матрикса в нейропиле. На фоне однократного введения полидана увеличивалось количество профилей отростков с электронно-плотным матриксом, с частично просветленным матриксом и с полностью просветленным матриксом. На фоне пятикратного введения в неокортексе число отростков с электронно-плотным матриксом уменьшалось. При этом наблюдалось уменьшение числа отростков с частично просветленным матриксом и увеличение количества отростков с полностью просветленным матриксом.

Таким образом, изменения, обнаруженные при ультраструктурном анализе состояния рибосом, митохондрий и нейропиля свидетельствуют об усилении синтетических процессов в V слоя соматосенсорной области неокортекса под влиянием однократного применения полидана, что согласуется с данными проведенных ранее светооптических исследований. Однако пятикратное применение препарата вызывает гиперактивацию синтетических процессов, приводящую к негативным изменениям в митохондриях и нейропиле, что нельзя было обнаружить на светооптическом уровне.

Указатель по фамилии первого автора доклада

Абдуллина Олеся Анатольевна	3
Абраменко Екатерина Дмитриевна	4
Аверчева О.В.	5
Ажиев Алишер Б.	7
Айолло Дмитрий Владимирович	8
Акентьева Н.А.	9
Александров Олег Сергеевич	10
Алымкулов Джекшен Эмилевич	11
Андреев-Андриевский Александр Александрович,	12
Антипова Надежда Викторовна	13
Антонов М.Ю.	14
Арутюнян Рубина Самвеловна	15
Асеев Леонид Викторович	16
Ахмадишина Л.З.	17
Ашкинази Марина Леонидовна	19
Бацко О.В.	20
Басевич Евгений Викторович	21
Белугин Дмитрий Александрович	22
Бенкен Константин Александрович	23
Безменов Николай Николаевич	24
Биккинина А.Г.	25
Бондарева Людмила Александровна	27
Божко Александр Александрович	28
Брейгина Мария Александровна	29
Будаев Роман Александрович	30
Бушуев Андрей Владимирович,	31
Валиев Р.Р.	33
Васильева Алена Константиновна	34
Васин Антон Евгеньевич	35
Васинская Ольга Алексеевна	36
Вантенкова Ирина Викторовна	37
Ваулина Мария Евгеньевна	38
Ваханова Г.М.	40
Вдовенко Сергей Игоревич	41
Венжик Ю.В.	42
Визирь Яна Георгиевна	43
Виляева Наталья Александровна	45
Власова Елена Анатольевна	46
Воинова Вера Владимировна	47

Волкова К.В.	48
Галимов Артур Рафаэлевич	50
Галоян Эдуард Арташесович	51
Гарилова Е.В.	52
Гаврюшина Елена Сергеевна	53
Георгиева Марина Леонидовна	54
Гилязов Тимур Филаритович	56
Голик Дмитрий Никитич	57
Голуб Николай Викторович	59
Гончар А. Л.	60
Гончарова Наталья Владимировна	61
Горожанина Анна Валерьевна	62
Горюнов Алексей Вячеславович	63
Гребенюк Екатерина Сергеевна	65
Гринберг Эльвира Римовна	66
Гудова Наталия Владимировна	67
Гулакова Наталья Михайловна	68
Гущина Любовь Владимировна	69
Данилова Вера Викторовна	71
Дворецкий Евгений Владимирович	72
Дегтярева Г.В.	73
Дидыч Дмитрий Александрович	74
Докрунова Айтсана Алексеевна	75
Долецкий А.Н.	76
Дорофеев Игорь Юрьевич	78
Дорофеева Анна Александровна	79
Дорошенко Юлия Валерьевна	81
Дворжак Антон Юрьевич	82
Евграфова Анжелика Афанасьевна	83
Евсеев Алексей Игоревич	85
Евсенко Мария Сергеевна	86
Егорова Наталья Николаевна	87
Елькина Надежда Александровна	88
Емельянова Татьяна Валерьевна	89
Ефремова Елена Александровна	91
Загидуллин Вадим Эдуардович	92
Зайнетдинова А.Х.	93
Заячникова Татьяна Валентиновна	94
Заводовский Петр Геннадьевич	95
Зубарева Екатерина Владимировна	96
Иванская Наталья Николаевна	98

Ильинский Валерий Владимирович,	99
Исмайлова Айгюн Билал кызы	100
Каграманова Арина Сергеевна	101
Казakov А.С.	102
Казаров Александр Александрович	103
Камаев И.О.	104
Карандашева В.О.	105
Каричева Ольга Зиевна.....	106
Каримова М.Р.	108
Карпова Лариса Викторовна	109
Катасонова Анна Александровна	110
Кириченко Евгения Юрьевна	111
Кирпиченко Татьяна Владимировна	112
Кизилова Наталья Александровна	114
Княжанская Екатерина Сергеевна.....	115
Ковалева Дарья Игоревна	116
Коломиец Юлия Васильевна	118
Комарова Ольга Александровна.....	119
Коновалов Федор Андреевич.....	121
Косьян А.Р.	122
Костенко Александр Вячеславович	123
Коцинян Армен Размикевич	124
Кочетова Евгения Евгеньевна.....	125
Кочетова Е.Е.....	126
Кудинова З.А.....	128
Кузьмина Т.В.....	129
Курашов Василий Николаевич.....	130
Курмышкина Ольга Вадимовна.....	131
Курская Оксана Васильевна	132
Кучерявый Александр Васильевич	133
Лазарева Е.А.....	134
Лебедев Александр	136
Леляев В.Г.	137
Лифантьева Александра Александровна	138
Ловцова Ю.А.	139
Логина Надежда Александровна	140
Лучицкая Елена Сергеевна	142
Лузянин С.Л.	143
Лысенко Лариса Валерьевна.....	144
Любина Ольга Евгеньевна	145
Ляпунов Александр Валерьевич.....	146

Магомедова М.А.	148
Максименко О.Г.	149
Мальцев Александр Юрьевич.	150
Маркова Ксения Борисовна	151
Медведева Жанна Владимировна.	152
Медведева Надежда Евгеньевна.	153
Мельник Ксения Сергеевна	155
Михайлов Иван Викторович	156
Михалдыко Наталья Петровна	157
Морозов Глеб Игоревич	158
Морозов Виталий Юрьевич	159
Мочалов Степан Вячеславович	161
Мысина Вера Александровна	162
Нагаева Елена Ивановна	163
Назарова Екатерина Александровна	164
Немых Мария Александровна	165
Непомнящая Яна Николаевна.	167
Нестеренко Алексей Михайлович.	168
Николаева Ю.Г.	169
Никольский Антон Сергеевич	170
Овешников Игорь Николаевич	172
Одгаева Айса Владимировна	173
Омарова С.О.	174
Остромышенский Дмитрий Игоревич	175
Пашин Владислав Михайлович.	176
Перепечаева М.Л.	178
Петрова Кюннэй Модестовна	179
Полещук Нина Андреевна	180
Полилов А.А.	181
Попов Александр Сергеевич.	182
Попова Мария Сергеевна	183
Преловский Владимир Александрович	185
Прокопенко Анна Викторовна	186
Рабданова А.И.	187
Радченко Александра Николаевна	188
Риваненкова Мария Леонидовна	190
Римская Ольга Владимировна	191
Русанова Анна Викторовна.	192
Ряховский Алексей Алексеевич	193
Савельева Дарья Николаевна.	195
Самойлова Зоя Юрьевна	196

Санников Сергей Анатольевич.....	197
Сарокваша Оксана Юрьевна.....	198
Сарсацкая Анна Сергеевна.....	199
Сарсенова А.С.....	201
Сафьянов Анатолий Анатольевич.....	202
Седова Наталия Анатольевна.....	203
Сельдимирова Оксана Александровна.....	204
Семенов Александр Геннадьевич.....	206
Сердюк Татьяна Сергеевна.....	207
Синюшин А.А.....	208
Ситар О.В.....	209
Смирнов Иван Алексеевич.....	211
Соколова О.В.....	212
Соловьева Татьяна Ивановна.....	213
Сорокин Николай Владимирович.....	214
Спирина Елена Владимировна.....	215
Стрельцова Алёна Игоревна.....	216
Сумин Михаил Николаевич.....	218
Тарасова Надежда Валерьевна.....	219
Телегина Анна Феликсовна.....	220
Тимашева Я.Р.....	221
Тихоненко С.А.....	222
Ткаченко Ольга Николаевна.....	223
Ткачук Артем Петрович.....	225
Ударцева Ольга Олеговна.....	226
Узунян Ольга Андреевна.....	228
Украинский Андрей Сергеевич.....	229
Ульянова Ксения Александровна.....	230
Фасхутдинова Алсу Амировна.....	231
Федорин Василий Васильевич.....	232
Филоненко Андрей Владимирович.....	233
Фомина Марина Александровна.....	234
Фоминых Елена Сергеевна.....	236
Харькова Ольга Юрьевна.....	237
Халилова Л.А.....	238
Хизриева Аида Ильясовна.....	240
Холмогорова Ирина Лукинична.....	241
Цфасман Татьяна Михайловна.....	242
Цыганов Андрей Николаевич.....	243
Чайкова Анна Владимировна.....	244
Чжао Сяожун.....	245

Шакирзянова А.В.....	246
Шамсутдинов Т.Р.....	248
Шаталин Юрий Викторович	249
Шестак А.А.	250
Шестаков Л.С.....	251
Шпак Василиса Владимировна.....	252
Штыря Юлия Александровна	253
Шутова Мария Сергеевна	254
Щеголькова Ю.В.....	255
Щепотина Елена Георгиевна	256
Щербаков Александр Михайлович	258
Шука Татьяна Витальевна	259
Щуцкая Юлия Юрьевна	260
Юршев Владимир Александрович	261
Якутенко Ирина Игоревна	262
Яловега Александр Викторович	263
Ярунова Екатерина Николаевна	264
Яценко Игорь Олегович	265
Каптарь Виктория Сергеевна.....	267