

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Федеральный исследовательский центр
КРАСНОЯРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

**Обособленное подразделение
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

**ТЕЗИСЫ
КОНКУРСА-КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ**

30 марта 2022 г.

ПРОГРАММА

КОНКУРСА-КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ ИБФ СО РАН 2022 ГОДА

Открытие конференции 30 марта (среда), в 10:00, актовЫЙ зал

Вступительное слово:

Председатель конкурсной комиссии, д.б.н., Денис Юрьевич Рогозин

Доклады молодых учёных:

- | | |
|---|-------------------------------------|
| Бурдин Леонид Алексеевич | |
| 1 Макро-частицы древесных углей в донных отложениях озера Шира (Хакасия) как индикатор динамики пожаров на окружающей территории в позднем голоцене | 10 ⁰⁵ – 10 ²⁰ |
| Драндрова Кристина Аликовна | |
| 2 Получение и характеристика фракции экзосом мочи человека | 10 ²⁰ – 10 ³⁵ |
| Тропников Сергей Романович | |
| 3 Механизм мутации F617V в гене JAK2 через образование хугстиновских пар оснований | 10 ³⁵ – 10 ⁵⁰ |
| Рукоусева Наталья Витальевна | |
| 4 Влияние мутации K90E на условия фолдинга фотопроотеина беровина | 10 ⁵⁰ – 11 ⁰⁵ |
| Ефремов Максим Константинович | |
| 5 Сайт-направленное конъюгирование люциферазы NanoLuc с биоспецифичными молекулами | 11 ⁰⁵ – 11 ²⁰ |
| Синнер Елизавета Константиновна | |
| 6 Фекальные станолы в донных отложениях озера Шира как индикатор антропогенной нагрузки в водосборном бассейне озера в позднем голоцене | 11 ²⁰ – 11 ³⁵ |
| Андрущенко Павел Юрьевич | |
| 7 Особенности сезонного формирования годовых колец на чешуе байкальского хариуса в условиях измененного температурного режима | 11 ³⁵ – 11 ⁵⁰ |
| Вахрушев Вадим Игоревич | |
| 8 Радиоизотопные методы расчета скоростей седиментации донных отложений реки Енисей | 11 ⁵⁰ – 12 ⁰⁵ |
| Колесник Ольга Владиславовна | |
| 9 Низкоинтенсивное воздействие Th-232 на люминесцентные бактерии. Роль активных форм кислорода | 12 ⁰⁵ – 12 ²⁰ |
| КОФЕ-БРЕЙК | 12 ²⁰ – 12 ³⁵ |

- Калябина Валерия Павловна**
- 10 Закономерности влияния коммерческих препаратов пестицидов на тестовые системы *in vitro* и *in vivo* 12³⁵ – 12⁵⁰
- Дудаев Алексей Евгеньевич**
- 11 Потенциал применения лазерной резки для направленной модификации поверхности ПГА-плёнок 12⁵⁰ – 13⁰⁵
- Коротов Игорь Александрович;**
- 12 Мутантные формы копеподной люциферазы *Metridia longa*. Получение и характеристика 13⁰⁵ – 13²⁰
- Маркова Галия Муратовна**
- 13 Критерии наличия рефлексии у простой нейронной сети в рефлексивной игре 13²⁰ – 13³⁵
- Лоншакова-Мукина Виктория Ивановна**
- 14 Стабильные многокомпонентные иммобилизованные препараты на основе бутирилхолинэстеразы для применения в ингибиторном анализе 13³⁵ – 13⁵⁰
- Посохина Екатерина Дмитриевна**
- 15 Обнаружение гиспидина в питательной среде при погруженном культивировании базидиомицета *Inonotus obliquus* (Чага) 13⁵⁰ – 14⁰⁵
- Лисица Альберт Евгеньевич**
- 16 Механизмы влияния вязких сред на элементарные стадии биолюминесцентной реакции бактерий 14⁰⁵ – 14²⁰
- Колесникова Ольга Дмитриевна**
- 17 Исследование эффективности гербицидных препаратов пролонгированного действия на основе поли-3-гидроксibuтирата 14²⁰ – 14⁴⁵
- Стоянов Кирилл Николаевич**
- 18 Состав и содержание жирных кислот и аминокислот в личинках мух *Lucilia sericata* (сем. Calliphoridae), выращенных на различных кормах 14⁴⁵ – 15⁰⁰

Подведение итогов конференции экспертной комиссией:

д.б.н. Рогозин Денис Юрьевич – Председатель

д.ф.-м.н. Барцев Сергей Игоревич

к.б.н. Буракова Людмила Петровна

к.б.н. Жила Наталья Олеговна

к.б.н. Ларионова Марина Дмитриевна

Заключительное слово:

Председатель конкурсной комиссии, д.б.н., Д.Ю. Рогозин

Макро-частицы древесных углей в донных отложениях озера Шира (Хакасия) как индикатор динамики пожаров на окружающей территории в позднем голоцене

Бурдин Леонид Алексеевич

Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН

Прогноз пожарных обстановок при различных климатических сценариях представляет собой чрезвычайно актуальную задачу для Сибири, где пожары несут серьезную угрозу природным биоценозам и местному населению. Для адекватного прогноза необходима информация о частоте и интенсивности пожаров в прошлом. Кроме того, сравнительная оценка вклада антропогенных факторов в современную пожарную обстановку может быть сделана только на основе сравнения современной пожарной обстановки с реконструированной по природным архивам. Одним из наилучших архивов являются донные отложения озер [1].

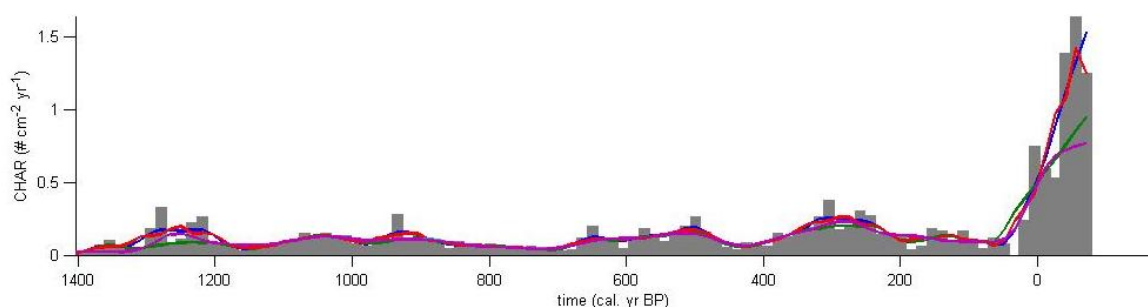


Рис. 1. Динамика потока угольных частиц размером свыше 100 мкм в донные отложения оз. Шира за прошедшие около 1400 лет (за начало отсчета принят 1950 год).

Частицы древесных углей размером свыше 100 мкм в донных отложениях являются индикаторами пожаров, происходивших на прилегающей к водоему территории в несколько километров [2]. На основе микроскопического анализа датированных слоев керны донных отложений озера Шира (юг Сибири, Хакасия) нами показано, что последние около 100 лет отличаются резким увеличением потока угольных частиц в озеро (Рис. 1). Данное увеличение согласуется с результатами по многим озерам мира и предположительно обусловлено современным усилением антропогенного воздействия, как в виде случайных и умышленных поджогов, так и в виде сжигания древесины и углей для отопления жилых домов и отдыха на прилегающей к озеру территории.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда № 22-27-00398. Автор благодарен Рогозину Д.Ю. за научное руководство и помощь на всех этапах работы.

Литература:

[1] Marlon, J. R. Quaternary Research, V.96, PP.66-87 (2020).

[2] Unkelbach J., Dulamsuren C., Punsalpaamuu G. et al. Vegetation History and Archaeobotany, V.27, PP.665-677 (2018).

Получение и характеристика фракции экзосом мочи человека

Драндрова Кристина Аликовна

Сибирский федеральный университет

Экзосомы – это тип мембранных везикул (30-200 нм), секретируемых во внеклеточное пространство большинством типов клеток. Они содержат гетерогенные активные биомолекулы, такие как белки, липиды, миРНК, рецепторы, иммунорегуляторные молекулы и нуклеиновые кислоты [1]. Анализ экзосом, циркулирующих в биологических жидкостях (кровь, моча, слюна), имеет очевидный диагностический и/или прогностический потенциал [2], в частности для определения уровня экспрессии микроРНК – перспективных маркеров диагностики онкологических заболеваний и мониторинга противоопухолевой терапии. Несмотря на это, использование экзосом в клинических условиях ограничено из-за отсутствия простых и эффективных методов их выделения. «Золотым стандартом» является метод дифференциального ультрацентрифугирования, позволяющий стабильно выделять чистые фракции экзосом, однако данный метод предполагает использование дорогостоящего оборудования. В настоящее время активно разрабатываются альтернативные методы выделения экзосом, такие как центрифугирование в градиенте плотности, осаждение полимерами или путем агглютинации с помощью лектинов [3].

Целью работы было разработать способ аффинного выделения высокоочищенной фракции экзосом из мочи человека. Способ основан на взаимодействии лектина (конканавалин А) с восстановленными концевыми остатками α -D-маннозы и α -D-глюкозы гликолипидов и гликопротеинов на поверхности экзосом. В нашей работе конканавалин А был ковалентно иммобилизован на магнитные наночастицы магнетита. Подготовленный образец мочи человека (после центрифугирования и фильтрации) инкубировали с полученными конканавалин А-активированными наночастицами, промывали и элюировали фракцию экзосом раствором мальтозы. Для визуализации и характеристики экзосом, выделенных разработанным нами способом, были использованы методы динамического светорассеяния (DLS), сканирующей атомно-силовой (AFM) и электронной (SEM) микроскопии. Экзосомальную природу выделенных везикул подтверждали по наличию маркерного рецептора тетраспорина CD63 с помощью биолюминесцентного твердофазного микроанализа. В качестве биоспецифичной молекулы использовали анти-CD63 аптамер, а в качестве репортерной молекулы – Ca^{2+} -регулируемый фотопротеин обелин, химически конъюгированный с конканавалином А. Дополнительно был проведен анализ характерной экзосомальной микроРНК21 методом ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени.

Показано, что разработанный способ позволяет выделять из мочи везикулы, которые имеют размер порядка 90–200 нм и экспрессируют характерный белковый маркер CD63. По сравнению с ультра-центрифугированием предложенный метод проще, экономичнее и не требует использования специального оборудования.

Авторы благодарны Тюменцевой А.В. (ФИЦ СО РАН) за синтез аминированных наночастиц магнетита; Лукьяненко А.В, Немцеву И.В и Воробьеву С.А. (ФИЦ КНЦ СО РАН) за помощь при характеристике экзосом методами микроскопии и динамического светорассеяния. Особая благодарность Красицкой В.В. и Франк Л.А (Институт биофизики СО РАН). Работа выполнена при поддержке регионального гранта РФФИ №22-14-20020.

Литература:

- [1] Yáñez-Mó M., et al. Journal of extracellular vesicles, V.1, P.27066 (2015).
- [2] Schou A. S., et al. Advances in Clinical Chemistry, V.99, PP.1-48 (2020).
- [3] Малек А.В., и др. Вопросы онкологии, Т.60, С.429-436 (2014).

Механизм мутации V617F в гене JAK2 через образование Хугстиновских пар оснований

Тропников Сергей Романович

Сибирский федеральный университет

Главная особенность Хугстиновских пар – водородные связи образуются по большой бороздке, пурины разворачиваются на 180° , образуя две или три водородные связи. Хугстиновские пары оснований в ДНК активно изучаются методами ЯМР и были обнаружены в канонической ДНК [1].

Идея распространения нелинейных колебаний в биополимерах была предложена А.С. Давыдовым для распространения энергии без диссипации вдоль цепей фибриллярных белков [2]. Далее идея перенеслась на ДНК [3]. Эти модели предполагают «накачку» энергии в систему, но не учитывают тепловой шум [4].

Волны в цепи ДНК могут вызывать перестройку конкретных участков цепи. Для последовательностей АТАТАТАТ и GCGCGCGC экспериментально показана аномальная подвижность и повышенная частота образования Хугстиновских пар [1]. Наиболее уязвимы участки с регулярным чередованием пуринов и пиримидинов. В этих участках колебания сильнее, нуклеотиды отклоняются значительно. Для теоретического описания мы предлагаем использовать модель обрушения волн. Такой процесс аккумуляции энергии тепловых колебаний может приводить к перестройке пар оснований в Хугстиновские.

Примером гена, обладающим участками с аномальной подвижностью, является JAK2, содержащий мотив GTATGTGT с чередованием пуринов и пиримидинов. Похожих участков в гене около сотни.

Мутация на участке GTATGTGT приводит к избыточной экспрессии гена JAK2 и является маркером миелопролиферативных заболеваний. Нами предложен механизм появления мутации в гене JAK2, состоящий из следующих стадий:

1. Участок GTATGTGT способствует частому рождению Хугстиновских пар.
2. Окислительное повреждение гуанина приводит к появлению 8-оксогуанина.
3. Обрушение волн провоцирует перестройку 8-оксогуанина в Хугстиновскую пару.
4. Хугстиновская пара 8-оксогуанин-цитозин стабилизируется тремя водородными связями и способствует замене G->T.

В результате объединения факта существования в ДНК короткоживущих Хугстиновских пар и идей нелинейной динамики ДНК на примере гена JAK2 был предложен механизм закрепления мутации G->T.

Литература:

- [1] Evgenia N. Nikolova, Eunae Kim, et al., Nature, V.470, PP.498-502 (2011).
- [2] Давыдов А.С. Биология и квантовая механика. Киев.: Изд-во Наук. думка (1979).
- [3] Peyrard M., Bishop A. R. Physical review letters, V.62(23), P.2755 (1989).
- [4] Frank-Kamenetskii, M. D., Prakash, S. Physics of life reviews, V.11(2), PP.153-170 (2014).

Влияние мутации K90E на условия фолдинга фотопротейна беровина

Рукусуева Наталья Витальевна

Сибирский федеральный университет

Ca^{2+} -регулируемый целентеразин-зависимый фотопротейн беровин отвечает за свечение ктенофор *Beroe abyssicola* и, на данный момент, является наиболее изученным фотопротейном гребневиков. Отличительными особенностями рекомбинантного белка являются отсутствие остатков цистеина, активация *in vitro* при pH 9.0 в присутствии 0.5 М NaCl [1] и светочувствительность [2]. Такие условия активации кардинально отличаются от внутриклеточных, что ограничивает использование фотопротейнов ктенофор в качестве репортерных молекул. Поиск мутантных вариантов беровина с измененными свойствами мог бы помочь в решении этой проблемы. В данной работе с помощью ненаправленного мутагенеза с последующим скринингом библиотеки клонов на колониях *E. coli* был получен мутант беровина с заменой лизина в 90 положении на глутамат. Исследование свойств этого белка показало, что наибольший выход активного фотопротейна наблюдается при pH 7.0 в присутствии 0.3 М NaCl (Рис. 1), что значительно ближе к физиологическим условиям, чем условия активации беровина.

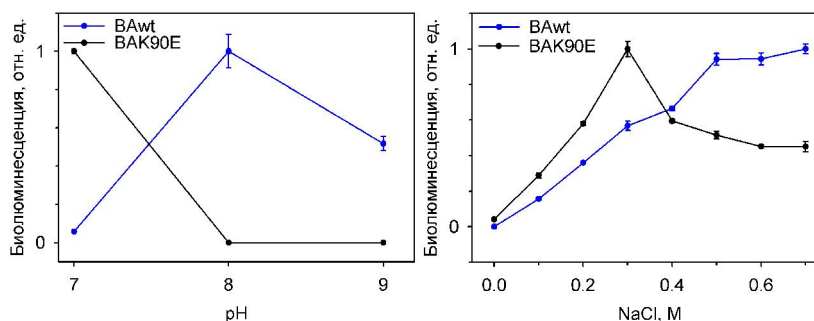


Рис. 1. Влияние pH и NaCl при pH 7.0 (K90E) или pH 9.0 (BAwt) на выход активного белка.

Выход активного белка K90E при активации в оптимальных для него условиях составляет около 10%, а удельная активность – около 1% от таковой беровина дикого типа. При этом стабильность фотопротейнового комплекса во времени, а также фото- и термостабильность мутанта выше, чем у дикого рекомбинантного белка. Согласно модели пространственной структуры беровина, аминокислотный остаток в положении 90 находится в активном центре белка и может влиять как на связывание субстрата, так и на его окисление. Поскольку максимумы спектров биolumинесценции K90E и дикого беровина совпадают, эмиттер биolumинесцентной реакции у них один и тот же и, по-видимому, не связан с изменением pH при активации.

Таким образом, замена аминокислотного остатка активного центра с положительным зарядом боковой цепи на другой с отрицательным зарядом может приводить к смене условий формирования фотопротейнового комплекса на близкие к внутриклеточным. Поиск мутантных вариантов, способных активироваться в физиологических условиях, будет продолжен.

Литература:

- [1] Markova, S.V. et al. FEBS Journal, V.279, PP.856-870 (2012).
 [2] Ward, W.W., Seliger, H.H. Photochemistry and Photobiology, V.23, PP.351-363 (1976).

Сайт-направленное конъюгирование люциферазы NanoLuc с биоспецифичными молекулами

Ефремов Максим Константинович

Сибирский федеральный университет

Искусственная целентеразин-зависимая люцифераза NanoLuc, полученная из малой субъединицы люциферазы креветок *Oplophorus gracilirostris*, является популярной репортерной молекулой благодаря уникально яркой и продолжительной биолюминесценции, небольшому размеру (19 кДа), термостабильности, устойчивости в широком диапазоне pH и стабильности при хранении и генетических модификациях [1]. NanoLuc широко используется для анализа белок-белковых (лиганд-рецепторных) взаимодействий, при исследовании фолдинга и конформационных изменений белка, для детекции антител и антигенов и т.д. [2]. Сенсоры на основе люцифераз представляют собой комплексные молекулы, включающие собственно люциферазу как сигнальный модуль и биоспецифичный модуль (полипептиды, олигонуклеотиды, гаптены и пр.), ответственный за «узнавание» мишени и связывание с ней. Биосенсоры на основе NanoLuc получают путем генетического слияния (фьюзинга) с различными полипептидами [3], поскольку при химическом конъюгировании NanoLuc теряет свою биолюминесцентную активность. Это ограничивает возможности ее использования как репортера для проведения молекулярного анализа *in vitro*.

Целью работы было исследовать возможность сайт-направленной химической модификации NanoLuc на примере гаптена (биотина) и олигонуклеотида. Для этого были получены варианты люциферазы, удлиненной с амино- либо карбоксильного конца гексапептидом LCTPSR (Per), содержащим доступную для конъюгирования тиольную группу цистеина. Кроме этого, сайт-направленным мутагенезом был получен вариант удлиненной NanoLuc с заменой единственного нативного цистеина на серин (C164S). Химическую модификацию проводили по введенному цистеину малеимидными производными биотина или олиготимидилата (dT₃₀). В работе была исследована относительная биолюминесцентная активность гибридных производных NanoLuc (Per-NanoLuc; NanoLuc-Per; NanoLuc(C164S)-Per), их стабильность при хранении и при химической модификации. В качестве субстрата во всех экспериментах использовали Ca²⁺-зависимый целентеразин-связывающий белок Renilla (CBP). Эффективность конъюгирования всех вариантов NanoLuc с биотином (NanoLuc-Bio) и олиготимидилатом (NanoLuc-dT₃₀) оценивали по выходу активных конъюгатов и модельным биолюминесцентным твердофазным анализам.

В результате исследования показано, что наиболее полно биолюминесцентная активность люциферазы сохраняется в гибриде NanoLuc(C164S)-Per: она составляет 98% от биолюминесцентной активности исходной люциферазы NanoLuc. При химическом конъюгировании этого гибрида с олиготимидилатом потери активности не наблюдали, выход NanoLuc(C164S)-Per-dT₃₀ составил 60%. Конъюгат обладает как биолюминесценцией NanoLuc, так и комплементарным сродством к олигоаденилату, что показано твердофазным микроанализом.

Автор выражает благодарность соавторам работы, к.б.н. В. В. Красицкой и д.б.н. Л. А. Франк.

Литература:

- [1] Hall M. P., Unch J., Binkowski B. F., et al., Chem. Biol., V.7, PP.1848-1857 (2012).
- [2] England C. G., Ehlerding E. B., Cai W., Bioconjugate Chem., V.27, PP.1175-1187 (2016).
- [3] Krasitskaya V. V., Bashmakova E. E., Frank L. A., Int. J. Mol. Sci., V.21, P.7465 (2020).

Фекальные станолы в донных отложениях озера Шира (Хакасия) как индикатор антропогенной нагрузки в водосборном бассейне озера в позднем голоцене

Синнер Елизавета Константиновна

Институт биофизики СО РАН

Анализ биохимических маркеров фекальных поступлений является одним из новейших направлений в палео-лимнологии. К этим веществам относятся станолы (холестанол, стигмастанол, и др.), производимые кишечной микрофлорой из стеролов и являющиеся индикаторами фекальных поступлений в водоем [1]. В кишечнике человека синтезируется копростанол, по наличию которого в донных отложениях может быть реконструирована динамика населения берегов водоемов и оценена динамика фекальных загрязнений [2].

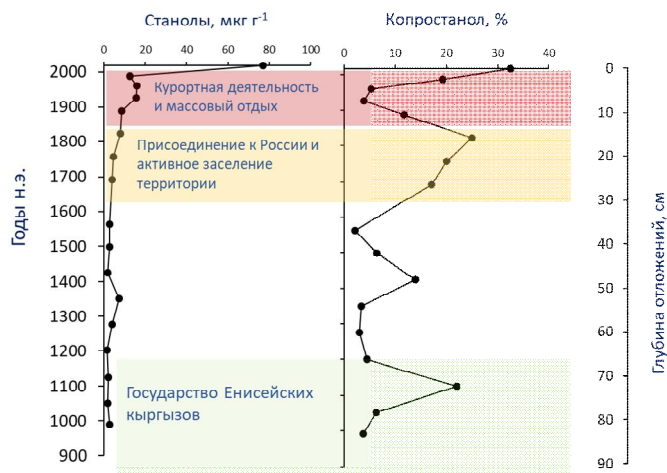


Рис. 1. Распределение фекальных станолов и доля копростанола в керне донных отложений озера Шира. Цветом выделены периоды истории Хакасии.

Методом газовой хроматографии нами впервые были оценены содержания холестерина и копростанола в датированных слоях керна донных отложений озера Шира (Хакасия). Увеличение доли копростанола свидетельствует об усилении фекальных поступлений антропогенного происхождения в озеро в современный период, а также в более ранние периоды истории Хакасии, в частности, в период существования государства Енисейских кыргызов (VIII – XIII вв н.э.).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда № 22-27-00398. Автор благодарен Rogozinu Д.Ю. за научное руководство, а также Бояндину А.Н. и Бульхину А.О. за помощь в аналитической работе.

Литература:

- [1] White, A.J., Stevens L.R., Lorenzi V. et al. Proc Natl Acad Sci USA, V.116, PP.5461-66 (2019).
- [2] D’Anjou R.M., Bradley R.S., Balascio N.L. et al. Proc Natl Acad Sci USA, V.109, PP.20332-37 (2012).

Особенности сезонного формирования годовых колец на чешуе байкальского хариуса в условиях измененного температурного режима

Андрущенко Павел Юрьевич

Институт биофизики СО РАН

Сибирский федеральный университет

Строительство плотин ГЭС приводит к серьёзным изменениям температурного режима рек, что в свою очередь сильно влияет на разнообразие видов, численность популяций и структуру сообществ [1]. Создание Красноярской ГЭС вызвало изменение температурного режима реки Енисей в нижнем бьефе плотины, и привело к трансформации сообществ фитопланктона, зоопланктона, зообентоса, а также к увеличению численности и скорости роста аборигенного байкальского хариуса *Thymallus baicalensis* Dybowski, 1874 [2, 3].

Нами было предположено, одной из причин изменения скорости роста хариуса мог стать продолжительный период оптимальных для соматического роста температур в нижнем бьефе ГЭС, позволяющий виду расти в течение всего календарного года. Для проверки данной гипотезы была исследована особенность сезонного формирования краевых склеритов на чешуе хариуса, обитающего в нижнем бьефе плотины Красноярской ГЭС. Известно, что увеличение количества склеритов происходит в период положительного соматического роста; в период остановки роста склериты перестают откладываться по периферии чешуи и происходит формирование окончательного годового кольца.

Отлов рыб происходил в среднем течении реки Енисей на участке протяженностью около 360 км от плотины Красноярской ГЭС до устья р. Ангары. Всего было исследовано 569 рыб, имеющих от одного до четырёх законченных годовых колец на чешуе. Выявлено, что количество склеритов на чешуе увеличивалось только в период с июля по октябрь-ноябрь, а в других месяцах увеличения числа склеритов не наблюдалось. Таким образом было показано, что, несмотря на увеличения срока благоприятных для роста температур и отсутствия ледостава в среднем Енисее, хариус по-прежнему растёт в течение ограниченного промежутка времени.

При этом, за данный ограниченный период исследованные хариусы достигают больших размеров, по сравнению с рыбами, обитавшими в Енисее до строительства Красноярской ГЭС. Возможными причинами этого может быть как увеличение биомассы зообентоса Енисея после строительства плотины, так и возможность прекращения трат энергии на миграции в притоки.

Литература:

- [1] Poff N. L., Zimmerman J. K. H. Freshwater biology, V.55, PP.194-205 (2010).
- [2] Гадинов А. Н., Долгих П. М. Вестник Красноярского государственного аграрного университета, №.3, С.169-174 (2014).
- [3] Зуев И. В. и др. Биология внутренних вод, Т.14, С.60-66 (2021).

Радиоизотопные методы расчета скоростей седиментации донных отложений реки Енисей*Вахрушев Вадим Игоревич*

Институт биофизики СО РАН

Сибирский федеральный университет

Речные донные отложения (ДО) являются уникальным объектом, содержащим информацию о поступлении поллютантов в пресноводные экосистемы. С середины XX века р. Енисей подвержена радиационному загрязнению техногенными радионуклидами как в результате глобальных выпадений, так и деятельности Горно-химического комбината (ГХК). Накопленная в ДО р. Енисей за всё время работы ГХК значительная активность техногенных радионуклидов с разными периодами полураспада ставит задачу построения хронологии поступления радионуклидов в речную пойму [1]. В зависимости от условий исследования применяются методы датирования по природному ^{210}Pb , а также по отношениям техногенных и природных радионуклидов: $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$, $^{234}\text{U}/^{232}\text{Th}$ и других. Цель работы – оценка методов расчета скоростей седиментации на примере реки Енисей.

В данной работе на основе анализа вертикальных распределений техногенных радионуклидов ^{60}Co , ^{137}Cs , ^{152}Eu , ^{154}Eu и природного ^{210}Pb в ДО были рассчитаны скорости седиментации по отношениям активностей $^{137}\text{Cs}/^{60}\text{Co}$, $^{152}\text{Eu}/^{154}\text{Eu}$ и $^{137}\text{Cs}/^{152}\text{Eu}$, а также с помощью стандартной модели неравновесного ^{210}Pb и модели постоянного потока (CRS). Примеры расчёта приведены на рисунке 1.

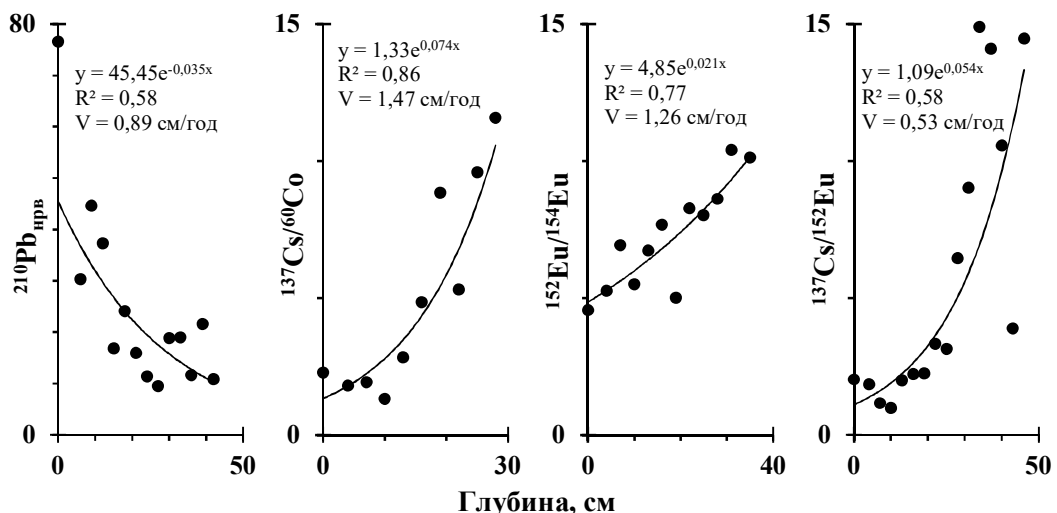


Рис. 1. Расчёт скорости седиментации по природным и техногенным радионуклидам

Расчитанные разными методами скорости седиментации составили 0,5–1,5 см/год. Различия полученных скоростей обусловлены разной миграционной способностью радионуклидов и неоднородностью гидрологических условий на разных участках р. Енисей. В изученных нами ядрах ДО поймы р. Енисей в зоне влияния ГХК обнаружены слои с относительно высоким содержанием техногенных радионуклидов и, используя расчёты скоростей седиментации, проведена датировка этих слоёв. Как правило, слои максимальной активности радионуклидов совпадают с годами экстремальных паводков на р. Енисей.

Работа выполнена за счет средств гранта Российского научного фонда №22-27-20001, Красноярского краевого научного фонда.

Литература:

[1] Болсуновский А.Я., Дементьев Д.В., Вахрушев В.И. Доклады Академии Наук, Т.498, С.189-194 (2021).

Низкоинтенсивное воздействие Th-232 на люминесцентные бактерии. Роль активных форм кислорода

Колесник Ольга Владиславовна

Институт биофизики СО РАН

Морские люминесцентные бактерии являются оптимальным биотестовым объектом для изучения низкодозового воздействия. Физиологическая активность бактерий оценивается по интенсивности их биолюминесценции. Люминесцентные бактериальные биотесты дают количественную меру токсичности и часто превосходят другие биотесты по быстродействию, точности, чувствительности и простоте.

В ходе жизнедеятельности бактерий продуцируются активные формы кислорода (АФК). Различные воздействия на бактериальную культуру, включая радиоактивное ионизирующее излучение, способны изменять производство АФК. Ранее было продемонстрировано, что АФК участвуют в активации физиологических функций люминесцентных бактерий под действием бета-излучающего радионуклида трития [1]. Особый интерес представляет вопрос: отвечают ли АФК за биоэффекты других радионуклидов с другими характеристиками радиоактивного распада?

Торий – один из самых распространённых радиоактивных элементов в природных экосистемах. Наряду с ураном, торий считается наиболее важным источником ядерной энергии, и в настоящее время ему уделяется внимание ввиду возможности его применения в качестве более чистого, безопасного и более распространённого ядерного топлива. Несмотря на распространённость данного элемента, в настоящее время влияние радиоактивного тория на живые организмы изучено недостаточно.

Целью работы было изучение низкоинтенсивного воздействия тория-232 на люминесценцию морских бактерий *Photobacterium phosphoreum* и выявление роли АФК в протекающих процессах.

В качестве объекта исследования были использованы интактные бактерии *Photobacterium phosphoreum*. Источником облучения служил азотнокислый Th-232 ($\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$); доза облучения бактериальной культуры не превышала 0,1 Гр, что не превышает условную границу низких доз. Измерения интенсивности биолюминесценции и хемилюминесценции проводили с помощью планшетного люминометра Luminoskan Ascent (Thermal Fisher Corp.).

Было обнаружено, что Th-232 умеренно активирует клеточные процессы при низкодозовом воздействии (<0,1 Гр). Была выявлена умеренная отрицательная корреляция между интенсивностью биолюминесценции бактерий и содержанием АФК ($r = -0,60$, $p < 0,05$) в диапазоне низких концентраций тория (10^{-11} – 10^{-6} М). Можно сделать вывод, что активация бактериальной биолюминесценции связана с интенсификацией окислительно-восстановительных процессов в водных средах и потреблением бактериями АФК.

Полученные результаты способствуют пониманию молекулярного механизма «гормезисных» ответов клеток на низкоинтенсивные радиоактивные воздействия. В данном исследовании Th-232 использовался как представитель группы альфа-излучающих радионуклидов. Результаты выявляют особенности механизма воздействия низкоинтенсивного радиоактивного облучения на живые организмы и способствуют дальнейшей адаптации биолюминесцентных методов к целям радиозоологического мониторинга.

Автор выражает благодарность за руководство и участие в работе Кудряшевой Н.С., Рожко Т.В., Сачковой А.С., Лапиной М.А. и Соловьёву В.С.

Литература:

[1] Rozhko T.V., Kolesnik, O.V., Badun, et al., Int. J. Mol. Sci., V.21, P.6783 (2020).

Закономерности влияния коммерческих препаратов пестицидов на тестовые системы *in vitro* и *in vivo*

Калябина Валерия Павловна

Сибирский федеральный университет

Пестициды в сельском хозяйстве представлены в большом разнообразии препаративных форм и охватывают широкий спектр механизмов действия. Их опасность для нецелевых видов организмов отмечается во множестве исследований. Одна из причин – пестицидные препараты и их остатки способны оказывать эффекты непосредственно на молекулярном уровне, изменяя скорости ферментативных реакций и вызывая каскад нежелательных последствий [1, 2]. Используя данное свойство, ферменты успешно применяют при разработке тестов для обнаружения пестицидного загрязнения [3].

Целью исследования являлась сравнительная оценка влияния пестицидных препаратов на тестовые системы *in vitro* и *in vivo*. В качестве тест-объектов были использованы: моноферментные реакции, такие как лактатдегидрогеназа (ЛДГ), алкогольдегидрогеназа (АДГ), NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза (Р), бутирилхолинэстераза (БуХЭ), щелочная фосфатаза (ЩФ), трипсин, биферментная система светящихся бактерий НАДН: ФМН-оксидоредуктаза и люцифераза (Р+Л) и триферментная система алкогольдегидрогеназа + NADH:FMN-оксидоредуктаза + люцифераза (АДГ+Р+Л), а также культура клеток биолюминесцентных бактерий *P. phosphoreum 1889*.

В работе проанализировано влияние на активность ферментов 10-ти коммерческих препаратов пестицидов, принадлежащих к разным химическим классам (пиретроиды, неоникотиноиды и фосфорорганические соединения), а также различающихся целевым назначением (гербициды и инсектициды). Наблюдались значительные различия в степени воздействия препаратов пестицидов на тест-системы. Так, например, IC₅₀ для коммерческих препаратов «Дельцид» (д.в. дельтаметрин) и «Муравьед» (д.в. диазинон) составили: 16,7 и 0,2 мг/л – для моноферментной системы на основе АДГ; 39,5 и 0,009 мг/л – для биферментной системы Р+Л; 12,7 и 0,005 мг/л – для триферментной системы АДГ+Р+Л соответственно. Из полученных результатов видно, что при переходе от простых тест-систем (моноферментные реакции) к сопряженным реакциям прослеживается увеличение чувствительности к действующим веществам пестицидов.

Установлено, что эффект пестицидных препаратов на биолюминесцентную тест-систему Р+Л является более выраженным по сравнению с действием на светящиеся бактерии. Так, ингибирование свечения бактерий на 50% наблюдалось при внесении в реакционную смесь 400 мг/л глифосата в составе коммерческого препарата «Торнадо» и 2000 мг/л имидаклоприда в составе препарата «Биотлин», при этом для тест-системы Р+Л параметры IC₅₀ для данных препаратов составили 1,8 и 0,003 мг/л соответственно. Таким образом, тест-системы *in vitro* (ферментативные реакции) существенно более чувствительны к исследованным препаратам пестицидов по сравнению с тестом *in vivo* (светящиеся бактерии). Способность ферментов изменять активность при воздействии пестицидов позволяет говорить о перспективности применения ферментативных тест-систем в экотоксикологическом мониторинге.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки в рамках проекта №. 20-44-242001. Благодарность соавторам работы Есимбековой Е.Н., Копыловой К.В., Лоншаковой-Мукиной В.И., Торгашиной И.Г., Анташкевич А.А.

Литература:

- [1] Kalyabina V. P., Esimbekova E. N. et al. Toxicol. Rep., V.8. PP.1179-1192 (2021).
- [2] Hernández A., F, Parrón T., Tsatsakis A. M. et al. Toxicology, V.307. PP.136-145 (2013).
- [3] Есимбекова Е. Н., Торгашина И. Г., Калябина В. П., Кратасюк В. А. Сиб. экол. журн., Т.3, С.364-382 (2021).

Потенциал применения лазерной резки для направленной модификации поверхности ПГА-плёнок

Дудаев Алексей Евгеньевич

Институт биофизики СО РАН

Преобладающая доля пластмасс, применяемых в различных сферах жизнедеятельности, производится из нефтепродуктов путём химического синтеза. Такие пластики сочетают в себе хорошие производственные характеристики и относительно низкую себестоимость, однако сильно уступают в части переработки, утилизации и экологической нагрузки. Альтернативой таким полимерам являются биопластики, которые способны к естественной деградации.

К таким перспективным «зелёным» биополимерам относится класс полигидроксиалканоев – полиэфиров микробиологического происхождения. Наряду с их полной биодegradируемостью, они устойчивы к ультрафиолетовому излучению и гидролизу в жидких нейтральных средах. Это позволяет получать из них спектр приложений для различных применений от коммунального и сельского хозяйства до высокотехнологичной биомедицины.

ПГА растворимы в неполярных растворителях, благодаря чему методом кастинга растворов возможно получение тонких плёнок, которые находят широкое применение от биопокровов и биоупаковок до сложных систем заживления ран. В зависимости от предназначения, выбор материала основывается на комплексе его базовых свойств, которые в совокупности придают изделию из него требуемую функциональность. Методом биологического синтеза возможно получение ПГА различного мономерного состава с вариативным включением отличных от 3-гидроксипропириата мономеров. Такие сополимеры повышают возможности применения ПГА, так как расширяют границы их базовых свойств – степени кристалличности, молекулярно-массового распределения, температур плавления и деградации, а также упруго-прочностных характеристик.

Важным параметром плёночных изделий является наноструктура поверхности, определяющая гидрофобно/гидрофильный баланс, энергетические параметры и силы адгезии/когезии. Возможность направленного влияния на эти структурно-функциональные особенности позволяет комбинировать преимущества базовых свойств с требуемой поверхностной реакцией для каждого конкретного применения. Перспективной технологией для этих целей в последние годы стала лазерная резка, позволяющая формировать на поверхности плёнок в зависимости от выбранного режима заданный нанопрофиль в виде желобков, канавок, ямок и других геометрических структур, обеспечивающий функциональность поверхности.

Полимерные плёнки гомополимера 3ГБ и 3х сополимеров ПГА с вариативным включением мономеров 4ГБ, 3ГВ, 3ГГ облучали углекислотным лазером Explorer II LaserPro в режиме непрерывной и квази-импульсной резки. В результате модификации лазером на поверхности плёнок при непрерывном облучении формировались регулярные углубления в виде желобков, чередующиеся с необработанными участками, при квази-импульсной обработке – сеть кратеров, расположенных на одинаковом расстоянии, площадь модификаций составила 11,6-13% и 6,3-10,5%, соответственно, в зависимости от термических характеристик образцов. При постоянном облучении у большинства образцов повышалась гидрофобность и снижались значения шероховатости, квази-импульсный режим сопровождался гидрофилизацией и повышением шероховатости большинства образцов.

Работа выполнена при поддержке Государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № ФСРЗ-2020-0006.

Литература:

[1] Volova T. G., Kiselev E. G., Nemtsev I. V., et al., International Journal of Biological Macromolecules, V.182, PP.98-114 (2021).

Мутантные формы люциферазы из копепод *Metridia longa*. Получение и характеристика

Коротов Игорь Александрович
Институт биофизики СО РАН

Репортеры на основе различных биолюминесцентных систем активно применяются в различных биомедицинских исследованиях как обладающие высокой чувствительностью, сопоставимой с радиоизотопными метками, широким динамическим диапазоном, нетоксичностью для живых организмов. Копеподные люциферазы обладают рядом полезных для использования в качестве репортеров свойств, таких как высокая активность, термостабильность и малые размеры; катализируют простую ферментативную реакцию окисления субстрата с излучением света, не требующую кофакторов. Целентеразин-зависимая люцифераза из копепод *Metridia longa* является самой маленькой известной люциферазой на сегодняшний момент. Ее молекулярный вес составляет всего 16.5 кДа, что позволяет снизить метаболическую нагрузку при использовании данного фермента в качестве репортера *in vivo* и повышает эффективность в BRET-системах. Люцифераза *Metridia* также обладает высокой активностью и термостабильностью. Имеет голубой спектр эмиссии с пиком ~485 нм. Данная люцифераза активно применяется в качестве биолюминесцентного репортера, однако, ввиду низкого температурного оптимума биолюминесцентной реакции, затруднено их применение в клетках млекопитающих [1].

Настоящее исследование продолжает работу по улучшению репортерных свойств люциферазы *Metridia* методами молекулярной эволюции. Ранее в лаборатории фотобиологии Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН был получен ряд мутаций, улучшающих биолюминесцентные свойства одной из изоформ люциферазы *Metridia*, MLuc7, повышающих активность фермента и сдвигающие его температурный оптимум в сторону более высоких температур. Лучшие варианты мутаций были собраны вместе в единой конструкции. В данной работе был проведен второй раунд случайного мутагенеза методом “ошибочной” ПЦР (error prone PCR) на гибридной матрице для дальнейшего улучшения репортерных свойств и синергетического эффекта введенных мутаций. Мутантные последовательности были экспрессированы в клетках *E. coli* для выделения мутантных белков и их характеристики. В настоящей работе представлены результаты исследования свойств 3-х наиболее перспективных мутантов, ML7m52, ML7m66 и ML7m100. Оценена их удельная активность, температурный оптимум, зависимость биолюминесцентной активности от концентрации NaCl и значения pH, а также определен максимум спектра излучения. Значения данных параметров сравнивались с исходной люциферазой MLuc7 и исходным для второго раунда мутагенеза вариантом ML7m73. Показано, что все исследуемые мутанты обладают большей удельной активностью по сравнению с исходными вариантами с сохранением остальных исследуемых характеристик. Один из вариантов ML7m52 обнаружил температурный оптимум биолюминесценции в диапазоне 37-42°C, что делает последнего крайне перспективным для использования в клетках млекопитающих *in vivo*. Максимум спектра биолюминесценции остается неизменным для всех исследуемых вариантов и составил ~485-490 нм. В рамках дальнейшей работы планируется характеристика мутантных люцифераз как репортеров в эукариотических клетках.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-44-242003.

Литература:

[1]. Markova S.V., Larionova M.D., Vysotski E.S., Photochem Photobiol, V.95(3), PP.705-721 (2019).

Критерии наличия рефлексии у простой нейронной сети в рефлексивной игре

Маркова Галия Муратовна

Сибирский федеральный университет

Институт биофизики СО РАН

Рефлексия в широком смысле – внутреннее отображение внешнего мира [1]. Для ряда задач наличие рефлексии обеспечивает эффективное решение, однако испытуемый может справляться с ними, не формируя внутренние отображения. В работе предложены критерии, по которым поведение простых искусственных нейронных сетей (ИНС) в ходе рефлексивной игры «Чет-нечет» может оцениваться на наличие рефлексии. Проверена применимость трех предложенных критериев наличия рефлексии: целевого (ИНС побеждает), поведенческого (ИНС использует более одного паттерна) и нейронального (траектория ИНС в пространстве нейронной активности не сходится к одной точке).

Использовались 10-нейронные рекуррентные ИНС. ИНС обучались игре в партиях с другими сетями в течение 1000 ходов, по алгоритму обратного распространения ошибки (глубина 5 ходов). Далее ИНС играли партию в 1000 ходов против двух «электронных гадалок», или машин Шеннона [2]: первой (МШ1), обученной в течение 2000 ходов играть против нейронной сети, и второй (МШ2), обученной играть против генератора случайных чисел. ИНС обучались и играли за нечет, структура ИНС и МШ после обучения фиксирована. Для оценки разнообразия реакций ИНС рассматривались короткие игровые паттерны: ход МШ (0/1), ход ИНС (0/1), следующий ход ИНС (0/1) и результат этого хода: победа(W)/поражение(L). Всего возможно 16 паттернов: 000W, 000L, 001W, 001L и т.д.

По числу побед против МШ1 лучше играли ИНС, которые использовали 1 паттерн из 16 в течение всей партии. Структура МШ1 подразумевала наличие универсальной победной стратегии, которой и пользовались ИНС-победители. Траектория нейронной активности таких ИНС сходится к точке (см. Рис.1А), что соответствует выбору одного и того же паттерна. Против МШ2 лучше играли ИНС, использовавшие 5-10 паттернов. Универсальная стратегия против МШ2 отсутствовала. Траектория нейронной активности ИНС-победителей имеет форму сложного цикла, что соответствует переходам между паттернами (см. Рис. 1Б). Оценка по критериям позволяет утверждать о наличии рефлексии, если выполняются все три. Поведенческий критерий при этом связан с нейрональным, поскольку изменения нейронной активности определяют тип поведенческой реакции ИНС. Целевой критерий выполняется, если ИНС выработала адекватную реакцию для текущей задачи.

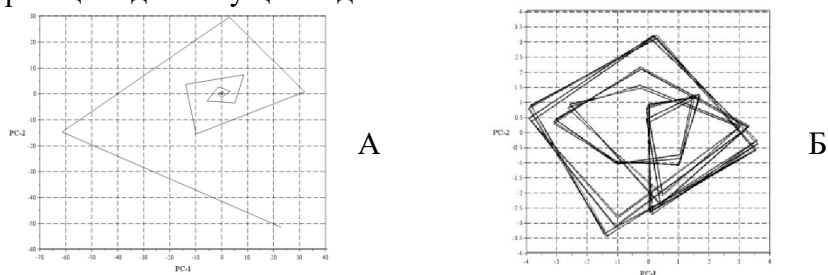


Рис. 1. Примеры траекторий в пространстве нейронной активности, обработанные методом главных компонент: А – ИНС, использовавшая 1 паттерн, Б – ИНС, использовавшая 5-10 паттернов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 20-41-240003. Благодарности: соавтору и научному руководителю д.ф.-м.н. Барцеву С.И., разработчику программы для визуализации нейронной активности Батуриной П.М.

Литература:

[1] Лефевр В.А. Рефлексия. М.: Когито-центр. 496 С. (2003).

[2] Shannon C. E. A mind-reading machine, Bell Laboratories memorandum (1953).

Стабильные многокомпонентные иммобилизованные препараты на основе бутирилхолинэстеразы для применения в ингибиторном анализе
Лоншакова-Мукина Виктория Ивановна
Институт биофизики СО РАН

Бутирилхолинэстераза (BChE) – гидролитический фермент, активно применяется в ингибиторном анализе и является основой аналитических систем для контроля остаточных количеств фосфорорганических пестицидов в воде, почве и продуктах питания [1]. Тем не менее остаётся нерешённой проблема недостаточной стабильности BChE при её использовании и хранении. Одним из основных способов получения стабильных ферментных препаратов BChE является её иммобилизация в различные носители. Крахмал и желатин, полимеры природного происхождения, образующие вязкие растворы и способные к формированию геля, используются как для создания вязкого микроокружения ферментов, так и для их иммобилизации. Целью работы является получение стабильных ферментных препаратов для ингибиторного анализа путем совместной иммобилизации компонентов аналитической системы на основе BChE в гели природных полимеров.

Активность BChE, выделенной из лошадиной сыворотки, определяли по методу Элмана [2]. Исследована температурная инактивация BChE в температурном диапазоне 50-64°C. Установлено, что кинетика термоинактивации BChE в 3% крахмальном и 1,4 % желатиновом гелях имеет одинаковый характер на всем диапазоне температур. Наблюдается кинетика термоинактивации второго порядка, включающая два различных механизма инактивации BChE, последовательно сменяющих друг друга и протекающих с разными скоростями (быстрой и медленной стадий). Быстрая стадия соответствует процессу диссоциации тетрамерного фермента на мономеры, а медленная стадия – процессу денатурации образовавшихся мономеров.

Для определения влияния гелеобразной среды реакции на механизмы ингибирования BChE было проведено исследование зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в присутствии обратимого ингибитора – неостигмина в буферном растворе, желатиновом и крахмальном гелях. Показано, что механизм ингибирования BChE в присутствии полимерных гелей не изменяется. В исследуемых условиях наблюдается смешанный тип ингибирования – конкурентно-неконкурентное вне зависимости от среды реакционной смеси.

Были получены препараты иммобилизованной в гели BChE, представляющие собой дозированный и высушенный диск, предназначенный на одно измерение. Для упрощения процедуры анализа ингибирующих веществ в состав препарата вносили 5,5'-дителио-бис(2-нитробензойную кислоту) (DTNB). Установлено, что иммобилизация BChE совместно с DTNB в крахмальном или желатиновом геле обеспечивает выход активности фермента не менее 62% по сравнению с растворимой BChE. Так же показано, что препарат, на основе BChE, иммобилизованной совместно с DTNB в крахмальном геле, сохраняет активность более 300 суток и обладает высокой чувствительностью к действию веществ антихолинэстеразного действия (для малатиона значение IC_{50} составило 8 мкг/л).

Таким образом, разработан стабильный многокомпонентный препарат на основе BChE, иммобилизованный совместно с DTNB в крахмальном геле, отличающийся длительным сроком хранения (более года), простотой в использовании и чувствительный к действию ингибирующих веществ.

Литература:

- [1] Yu-Ling Xu, Feng-Ye Li, Ferdinand Ndikuryayo, et al., *Sensors*, V.18, P.4281 (2018).
[2] Ellman G.L., K. D. Courtney, V. Andres. *Biochem. Pharmacol.*, V.7, PP.88-95 (1961).

Обнаружение гиспидина в питательной среде при погруженном культивировании базидиомицета *Inonotus obliquus* (Чага)

Посохина Екатерина Дмитриевна

Институт биофизики СО РАН

Высшие грибы являются уникальными природными источниками широкого спектра веществ, востребованных в медицине, биологии, фармакологии, пищевой и химической промышленности. Биомассу базидиомицетов (мицелий и плодовые тела) используют для получения волокнистых полимерных материалов (полисахариды, хитин) [1], соединений с фармакологической активностью [2], ферментов и ферментных систем [3], и т.д. Одним из продуцируемых базидиомицетами биоактивных компонентов является гиспидин (ГИ), который обладает рядом ценных фармакологических эффектов – антиоксидантным, противовоспалительным и противоопухолевым [4-6]. Поскольку ГИ является метаболитом высших грибов, было сделано предположение о возможности его выделения в питательную среду при культивировании мицелия базидиомицетов.

Цель данной работы состояла в оценке наличия и динамики накопления ГИ в питательной среде при культивировании базидиомицета *Inonotus obliquus* (медицинский гриб Чага) в погруженных условиях.

В исследованиях использовали культуру гриба *I. obliquus* IBSO 2430 из Коллекции микроорганизмов (ССIBSO 836) ИБФ ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск). Выращивание мицелия проводили в жидкой картофельно-декстрозной среде при 25°C и постоянном перемешивании. Наличие ГИ в питательной среде оценивали оригинальным способом [7] с использованием люминесцентной системы из мицелия гриба *Armillaria borealis* [8]. Для этого в ходе культивирования гриба ежедневно отбирали пробы питательной среды. Наличие ГИ в пробах среды оценивали после их добавления к люминесцентной системе, активированной НАДФН. ГИ является прекурсором субстрата люминесцентной реакции высших грибов, который сначала преобразуется НАД(Ф)Н-зависимой гидроксилазой в 3-гидроксигиспидин (люциферин) и затем окисляется люциферазой с излучением света [9]. Амплитуду и динамику светового сигнала регистрировали на люминометре Glomax® 20/20. Количество ГИ оценивали по максимальному уровню световой эмиссии.

В исследованиях установлено: культивирование гриба *I. obliquus* сопровождается ростом мицелия в виде шарообразных пеллет с большим количеством поверхностных выростов (гиф); в процессе выращивания мицелий продуцирует и выделяет ГИ в питательную среду; наличие ГИ в питательной среде обнаруживается на 7-е сутки культивирования; уровень ГИ в питательной среде возрастает и достигает максимальных значений на 11-13-е сутки выращивания гриба; перенос выращенных пеллет мицелия в свежий объем питательной среды и продолжение их культивирования сопровождается аналогичной динамикой накопления ГИ в среде. Полученные данные создают предпосылки использования базидиомицета *I. obliquus* для биотехнологического производства ГИ.

Автор выражает благодарность соавторам работы А.П. Пузырю и В.С. Бондарю.

Литература:

- [1] Haneef M., et al., Sci. Rep., V.7, 41292, PP.1-11 (2017).
- [2] Lin W.C., et al., RSC Adv., V.7, PP.7780-7788 (2017).
- [3] Martinez A.T., et al., Biotechnol. Adv., V.35, PP.815-831 (2017).
- [4] Anouar H., et al., Molecules, V.19, PP.3489-3507 (2014).
- [5] Shao H.J., et al., J. Sci. Food Agric., V.95, PP.2482-2486 (2015).
- [6] Lim J.H., et al., Anticancer Res., V.34, PP.4087-4093 (2014).
- [7] Puzyr A.P., et al., Dokl. Biochem. Biophys., V.480, PP.173-176 (2018).
- [8] Puzyr A.P., et al., Cur. Res. Env. Appl. Mycol., V.7, PP.227-235 (2017).
- [9] Purtov K.V., et al., Ang. Chem. Int. Ed., V.54, PP.8124-8128 (2015).

Механизмы влияния вязких сред на элементарные стадии биолюминесцентной реакции бактерий

Лисица Альберт Евгеньевич

Сибирский федеральный университет

Во внутриклеточных условиях биохимические процессы протекают в гетерогенном (как по составу, так и по пространственному распределению) микроокружении. Эта среда оказывает существенное влияние на скорость и равновесие ферментативных реакций. Чтобы выявить механизмы, лежащие в основе этих эффектов, биохимическую кинетику изучают в модельных средах, имитирующих одну или несколько характеристик внутриклеточной среды. Данный подход призван заполнить пробел между традиционными исследованиями *in vitro* в буферных растворах и попытками анализа реакций в интактных клетках. Целью работы было проанализировать влияние вязкости среды на отдельные стадии биолюминесцентной реакции бактерий, представляющей собой сложный ферментативный процесс. Была изучена нестационарная кинетика реакции, катализируемой бактериальной люциферазой, в буферных растворах с этиленгликолем, глицерином, сахарозой, сорбитолом, глюкозой и декстраном методом остановленного потока. Кинетические кривые были проанализированы с помощью математической модели, разработанной в соответствии с многостадийным механизмом реакции. Для выявления структурных аспектов воздействия соразтворителей на люциферазу применяли методы молекулярной динамики.

Для всех изученных соразтворителей было получено диффузионно-зависимое замедление связывания флавина, при этом отсутствовало влияние на скорость связывания кислорода. В случае глицерина и этиленгликоля замедление связывания флавина оказалось усугублено дополнительными факторами. Кроме того, обнаружено, что все соразтворители, кроме этиленгликоля снижают скорость автоокисления восстановленного флавиномононуклеотида и темнового распада пероксифлавинового интермедиата реакции. Также было обнаружено, что сахароза, сорбитол, глюкоза и декстран способны и увеличивать, а этиленгликоль – уменьшать скорость образования электронно-возбужденного интермедиата. Методами молекулярной динамики получено, что этиленгликоль оказывает специфическое воздействие на конформацию бактериальной люциферазы, что может быть причиной наблюдаемого снижения каталитической константы фермента. Также показано, что молекулы глицерина и этиленгликоля наиболее глубоко проникают в полость активного центра люциферазы, что может объяснять их влияние на связывания флавина. В то же время, в присутствии сахарозы обнаружены конформационные изменения функционально важного аминокислотного остатка люциферазы αGlu175 что может объяснять увеличение каталитической константы [1].

Таким образом, получено, что в присутствии всех изученных соразтворителей наблюдается замедление связывания субстратов реакции. Однако сорбитол, глюкоза и сахароза способствуют замедлению автоокисления восстановленного флавиномононуклеотида, темнового распада пероксифлавина и увеличению каталитической константы люциферазы, что в итоге приводит к сохранению количества испускаемых квантов света за один оборот фермента.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект No. FSRZ-2020-0006). Автор выражает благодарность Суковатому Л.А. за проведение молекулярно-динамических расчетов.

Литература:

[1] Lisitsa A. E. et al., International journal of molecular sciences, V.22, P.8827 (2021).

Исследование эффективности гербицидных препаратов пролонгированного действия на основе поли-3-гидроксибутирата

Колесникова Ольга Дмитриевна

Сибирский федеральный университет

Один из способов повышения эффективности использования пестицидов это их инкапсулирование в матрицы из природных полимеров. Применение биоматериалов в качестве систем доставки имеет множество преимуществ: биосовместимость, нетоксичность, эффективная инкапсуляция, пролонгированное высвобождение. Особое место среди биоразлагаемых полимеров занимают полигидроксиалканоаты (ПГА). Свойства ПГА, такие как медленная биоразлагаемость и возможность получения из них полимерных изделий в различных физических состояниях позволят использовать их для построения долгосрочных форм препаратов на их основе [1].

Целью работы является изучение эффективности свободных и депонированных в смесовую основу из поли-3-гидроксибутирата [П(ЗГБ)] и опилок гербицидных препаратов в посевах яровой пшеницы «Новосибирская 15». Установлена высокая гербицидная активность депонированных метрибузина и трибенурон-метила, сопоставимая с действием свободных форм гербицидов, а в ряде случаев – превосходящих их (рис. 1). Биологическая эффективность депонированных гербицидов превосходила показатели в положительном контроле и составила 82,6 % в группе растений с применением метрибузина и несколько ниже (63,4%) в случае применения депонированного трибенурон-метила.

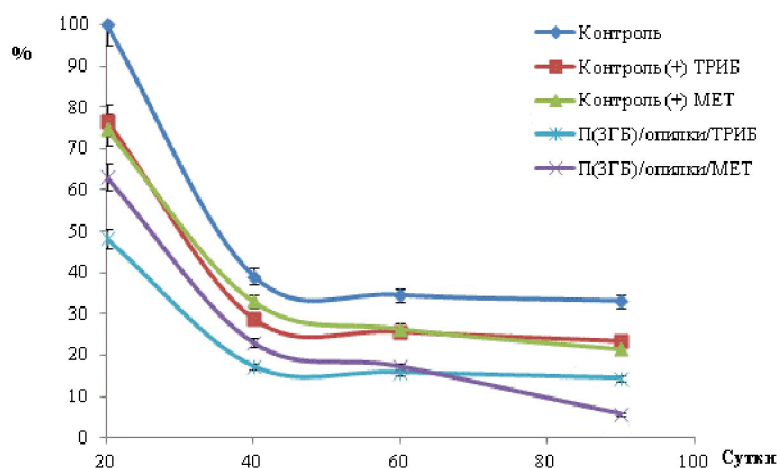


Рис. 1. Динамика гибели сорных растений в посевах яровой пшеницы «Новосибирская 15».

Работа выполнена при финансовой поддержке Проекта «Агропрепараты нового поколения: стратегии конструирования и реализации» (Соглашение № 074-02-2018-328) в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 9 апреля 2010 г. № 220 «О мерах по привлечению ведущих ученых в вузы России».

Литература:

[1] Волова Т.Г., Жила, Н.О., Прудникова С.В., и др. Фундаментальные основы конструирования и применения сельскохозяйственных препаратов нового поколения, Красноярск: 214 С. (2016).

Состав и содержание жирных кислот и аминокислот в личинках мух *Lucilia sericata* (сем. Calliphoridae), выращенных на различных кормах

Стоянов Кирилл Николаевич

Сибирский федеральный университет

Институт биофизики СО РАН

Аквакультура – быстро развивающаяся отрасль сельского хозяйства, за последние 50 лет доля аквакультуры на мировом рынке морепродуктов выросла с 4% до 46% [1]. Однако сейчас она столкнулась с недостатком кормов, основу которых составляют уловы дикой рыбы. Для дальнейшего устойчивого развития аквакультуры необходимо разработать альтернативные корма, производимые не из дикой рыбы. Насекомые считаются подходящим источником белка для рыбы, но их состав и содержание жирных кислот (ЖК) часто не отвечает требованиям аквакультуры [2]. В рыбьем жире преобладают ПНЖК семейства омега-3, а в жире наземных насекомых – омега-6. Актуальными стали исследования по модификации липидного состава личинок насекомых с целью увеличения содержания ПНЖК омега-3 [3].

Целью настоящей работы было определение состава и содержания ЖК в личинках мух *Lucilia sericata*, выращенных на стандартном корме и корме с добавлением масла рыжика посевного *Camelina sativa*, богатого альфа-линоленовой кислотой (АЛК, 18:3n-3), а также анализ аминокислотного состава (АК) личинок этого вида мух.

Жирнокислотный анализ проводили на газовом хроматографе, оснащённом масс-спектрометрическим детектором. Анализ аминокислотного состава выполняли на жидкостном хроматографе. Состав АК исследуемых личинок мух, подобно другим насекомым (Diptera), был близок к составу АК рыбной муки. Состав и содержание ЖК в личинках мух, выращенных на стандартном корме, характеризовались низким соотношением омега-3/омега-6 ПНЖК и доминированием 18:1n-9 и 18:2n-6 ЖК, которые вместе составляли 40-60% от общего количества ЖК. Добавление рыжикового масла изменило соотношение омега-3/омега-6 ПНЖК с 0.11 до 0.46, в основном за счет увеличения содержания АЛК. Таким образом, содержание и состав ЖК личинок *L. sericata* может быть значительно изменен рационом питания.

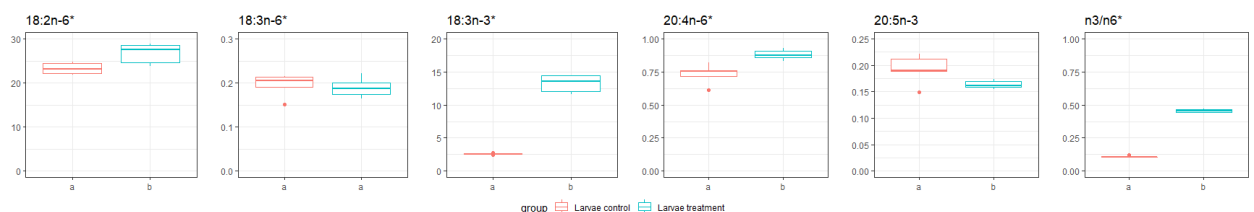


Рис. 1. Содержание некоторых ЖК в личинках мух контрольной (*Larvae control*) и опытной групп (*Larvae treatment*).

Работа поддержана Государственным заданием по программе фундаментальных исследований РФ, тема №51.1.1; Государственным заданием Минобрнауки РФ Сибирскому федеральному университету FSRZ-2020-0006; «Красноярским краевым фондом поддержки научной и научно-технической деятельности» в рамках проекта «Разработка импортозамещающих технологий для аквакультуры лососевых рыб в условиях Красноярского края». Благодарность соавторам работы О.Н. Махутовой, К.Г. Малышевскому, Е.В. Борисовой, Н.Н. Сущик, А.А. Колмаковой, В.Н. Моргуну, М.И. Гладышеву.

Литература:

- [1] FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome. P.206 (2020).
- [2] Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.-J., et al., Aquaculture, V.422-423, PP.193-201 (2014).
- [3] Oonincx, D.G.A.B., Laurent, S., Veenenbos, M.E., et al., Insect Science, V.27, PP.500-509 (2020)