МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Всероссийская биологическая ассоциация «Симбиоз – Россия»

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

Институт технической химии УрО РАН

Институт механики сплошных сред УрО РАН

Федеральный научный центр медико-профилактических
технологий управления рисками здоровью населения

МОО «Микробиологическое общество»

ООО «Имбиоком»

ООО «Нанотек»

СИМБИОЗ – РОССИЯ 2016

Материалы IX Всероссийского конгресса
молодых ученых-биологов

(г. Пермь, 4–6 июля 2016 г.)

Пермь 2016

УДК 57
ББК 28
С 37

С 37 **Симбиоз** – Россия 2016: материалы IX Всерос. конгр. молодых ученых-биологов (г. Пермь 4–6 июля 2016 г.) / отв. за вып. А. А. Елькин, В. Н. Терпугов; Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Пермь, 2016. – 82 с.

ISBN 978-5-7944-2755-4

Сборник включает тезисы докладов студентов, аспирантов и молодых ученых – участников IX Всероссийского конгресса молодых ученых-биологов «Симбиоз – Россия 2016». Представленные работы освещают широкий спектр исследований в области биологии, проводимых начинающими учеными самостоятельно либо под научным руководством.

Материалы представляют интерес для специалистов, работающих в различных областях биологии.

УДК 57
ББК 28

Печатается по решению оргкомитета конференции

Ответственные за выпуск:
А. А. Елькин*, *В. Н. Терпугов

ISBN 978-5-7944-2755-4
© ПГНИУ, 2016

СОПРЕДСЕДАТЕЛИ ОРГКОМИТЕТА:

Макарихин И.Ю.	д. ф.-м.н., ректор ПГНИУ, Пермь, Россия
Черешнев В.А.	академик РАН, Екатеринбург, Россия

ЧЛЕНЫ ОРГКОМИТЕТА:

Ветров А.Л.	к.г.н., проректор по научной работе и инновациям ПГНИУ, Пермь, Россия
Гаврин А.Ю.	PhD, научный сотрудник лаборатории Сейнсбери Кембриджского университета, Кембридж, Великобритания
Гришко В.В.	к.х.н., заведующая лабораторией ИТХ УрО РАН, Пермь, Россия
Демаков В.А.	чл.-корр. РАН, директор ИЭГМ УрО РАН, Пермь, Россия
Зайцева Н.В.	академик РАН, директор ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Пермь, Россия
Ившина И.Б.	чл.-корр. РАН, заведующая лабораторией ИЭГМ УрО РАН профессор ПГНИУ, Пермь, Россия
Кузнецов М.В.	председатель ВБА «Симбиоз-Россия», Казань, Россия
Литвиненко Н.И.	профессор, декан биологического факультета ПГНИУ, Пермь, Россия
Макаров С.О.	д.ф.-м.н., проректор по учебной работе ПГНИУ, Пермь, Россия
Стрельников В.Н.	д.т.н., директор ИТХ УрО РАН, профессор, Пермь, Россия

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА:

Елькин А.А.	к.б.н., н.с. ИЭГМ УрО РАН, ст. преп. ПГНИУ, Пермь, Россия

ЧЛЕНЫ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА:

Ахова А.В.	к.б.н., председатель совета молодых ученых ИЭГМ УрО РАН, Пермь, Россия
Беляев А.Ю.	аспирант ИМСС УрО РАН, Пермь, Россия

Землянова М.А.	д.м.н., зав. отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Пермь, Россия
Криворучко А.В.	к.б.н., с.н.с. ИЭГМ УрО РАН, доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Куюкина М.С.	д.б.н., профессор ПГНИУ, в.н.с. ИЭГМ УрО РАН Пермь, Россия
Паньков Н.Н.	к.б.н., зам. декана биол. ф-та ПГНИУ, Пермь, Россия
Смарцалов К.Н.	главный специалист службы информационных технологий,Пермь, Россия
Терпугов В.Н.	доцент кафедры МССВТ ПГНИУ, Пермь, Россия
Ушаков В.Ю.	к.б.н., доцент кафедры физиологий растении и микробиологии ПГНИУ, Пермь, Россия
Черненков А.Ю.	к.б.н., зав. отделом аспирантуры и образовательных программ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия
Чудинов В.С.	директор ООО “Имбиоком”, Пермь, Россия
Шардаков И.Н.	д. ф.-м.н., зав. лаб. ИМСС УрО РАН, Пермь, Россия

Адрес: 614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», оргкомитет IX Всероссийсккого с международным участием Конгресса молодых ученых-биологов **«Симбиоз–Россия 2016»**

ДОКЛАДЫ УЧАСТНИКОВ

ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЫ *rmf* И *yqjD* НА ПЕРСИСТООБРАЗОВАНИЕ У *E. COLI*

Аккузина Е.А.[1, 2],Ткаченко А.А.[1, 2]

[1]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия*
[2]*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

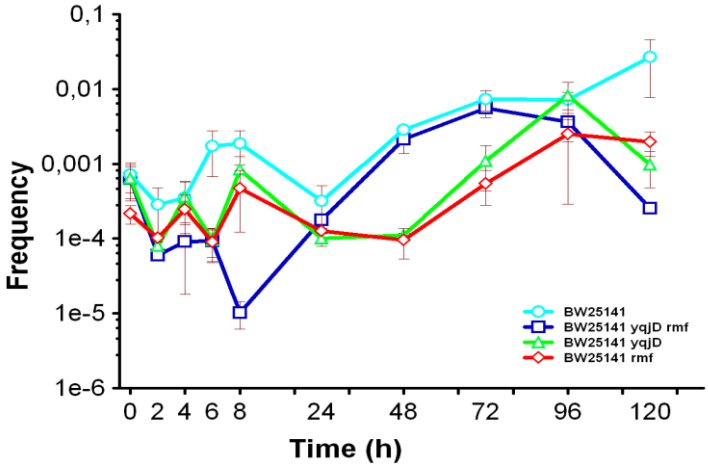
Персисторы – это субпопуляция клеток с замедленным метаболизмом, обладающих множественной фенотипической толерантностью к антибиотикам и способных возобновлять рост после снятия их воздействия. Понимание механизмов формирования персистенции имеет важное научное и практическое значение, благодаря тому, что персисторы являются причиной рецидивов инфекционных заболеваний [5].

Современные представления о персистообразовании связывают этот процесс с механизмами общего стрессорного ответа (стринджент-ответ, *rpoS*-регулон, ТА системы) [5,6]. Механизмы общего стрессорного ответа способны обеспечивать защиту бактериальной клетки от одновременного воздействия сразу нескольких различных стрессоров и, следовательно, носят глобальный характер в регуляции основных клеточных процессов. Действие данных механизмов, как правило, сопровождается значительным замедлением скорости метаболических реакций, что способствует выживанию персисторных клеток в условиях воздействия антибиотиков[1,5].

В данной работе изучена роль генов стационарной фазы *rmf* и *yqjD* на персистообразование у *E. coli* BW25141. Первый из них, относящийся к RelA/SpoT модулону, является ответственным за формирование 100S димеров рибосом [7], тогда как второй, входящий в rpoS-регулон, участвует в изоляции 70S и 100S рибосом путем их связывания на внутренней мембране бактериальной клетки [3].

Для выполнения поставленной цели нами на базе родительского штамма BW25141 с помощью метода Datsenko и Wanner[2] сконструирован двойной делеционный мутант Δ*rmf* Δ*yqjD*. В качестве контроля использованы штаммы с единичными делециями BW25141Δ*yqjD* и BW25141Δ*rmf*.

Определение частоты персистообразования осуществляли на основе протокола, представленного в статье Keren et al. 2004 [4]. Штаммы культивировали в полноценной среде LB. С целью выделения и подсчета персисторных клеток использовали аминогликозидный антибиотик нетилмицин в концентрации 1,4 мкг/мл. Использованная концентрация превышает минимальную подавляющую концентрацию (МПК) для исследуемых штаммов. Частоту персистообразования (ЧП) подсчитывали путем деления величины КОЕ/мл в культуре после инкубации с антибиотиками на КОЕ/мл в культуре без добавки антибиотика.



Частота персистенции, вызванной нетилмицином

Результаты исследования показывают общую тенденцию к снижению частоты персистенции у мутантных штаммов по сравнению с родительским. Наибольшее содержание персисторных клеток у контрольного штамма наблюдается на 8 ч культивирования при переходе культуры в стационарную фазу. В это время у штамма с 2 делециями отмечено наибольшее снижение частоты персистенции (на 2 порядка по сравнению с контролем). Контрольный штамм с единичной *rmf*-делецией демонстрировал в 10 раз меньшее снижение по сравнению с контролем, тогда как второй контрольный *yqjD*-нокаутированный штамм характеризовался лишь незначительным снижением данного показателя. Таким образом, присутствие одновременно двух нокаутных мутаций демонстрирует аддитивный

отрицательный эффект, свидетельствующий о вовлеченности исследуемых генов в процесс персистообразования в период перехода клеток в стационарную фазу. В то же время, в средней стационарной фазе (24 ч культивирования), которая характеризуется стабильным высоким значением частоты персистенции родительского штамма, наибольшее снижение этого показателя наблюдается у мутантов с единичными делециями.

Таким образом, гены *rmf* и *yqjD* существенно влияют на формирование персисторных клеток в стационарной фазе. По глубине отрицательного воздействия нокаутных мутаций на персистообразование можно прийти к заключению о преобладающем вкладе в этот процесс гена *rmf* по сравнению с *yqjD*.

Исследование выполнено в рамках программы УрО РАН (проект № 15-4-4-1).

Библиографический список

1. Ткаченко А.Г. Молекулярные механизмы стрессорных ответов у микроорганизмов. Екатеринбург: УрО РАН, 2012. – 268 с.
2. Datsenko K.A. One-step inactivation of chromosomal genes in Escherichia coli K-12 using PCR products / Datsenko K.A., Wanner B.L. // PNAS. – 2000. – Vol. 97. – № 12. – P. 6640–6645.
3. Yoshida H. YqjD is an inner membrane protein associated with stationary-phase ribosomes in *Escherichia coli* / Yoshida H., Maki Y., Sakai A., Ueta M., Wada A. //J. Bacteriol. – 2012. – p. 4178-4183.
4. Keren I. Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in Escherichia coli/Keren I., Shah D., Spoering A., Kaldalu N., Lewis K.// J. Bacteriol. –2004. – p. 8172-8180.
5. Lewis K. Persister cells / Lewis K. // The Annual Review of Microbiology. – 2010. – p. 357–372.
6. Maisonneuve, E. Molecular Mechanisms Underlying Bacterial Persisters / Maisonneuve E., Gerdes K. // Cell Elsevier. – 2014. – Vol. 157. – p. 539-548.
7. Wada A. Growth phase coupled modulation of *Escherichia coli* ribosomes/ Wada A. //Genes Cells. – 1998. – p. 203-208.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *sulAESCHERICHIACOLI*

Безматерных К.В., Смирнова Г.В. Октябрьский О.Н.

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

Виноград и многие продукты его переработки (вино, виноградный сок, экстракт виноградных косточек) являются богатыми источниками фенольных соединений и при воздействии на человека проявляют антиоксидантные, противовоспалительные, кардиопротекторные, антиканцерогенные и другие свойства. Вместе с тем, накопилось значительное количество экспериментальных данных, свидетельствующих о способности некоторых полифенолов воздействовать на бактериальные клетки, в частности, модулировать ответ *Escherichiacoli*на различные стрессовые воздействия, включая стресс, вызванный антибиотиками.Ципрофлоксацин, относящийся к группе фторхинолонов, является высокоэффективным антибиотиком широкого спектра действия и применяется при лечении дыхательных, мочеполовых и кишечных инфекций. Специфическими мишенями фторхинолоновявляются бактериальные топоизомеразы, которые играют важную роль в процессе репликации, релаксируясверхспирализованные молекулы ДНК посредством внесения одно- или двуцепочечных разрывов с последующим их восстановлением (лигированием).Ципрофлоксацин, присоединяяськ комплексу «фермент-ДНК»препятствует дальнейшему восстановлению ДНК, что приводит к ее фрагментации и в конечном итоге к гибели клеток.В ответ на повреждения ДНК в бактериальной клетке индуцируется SOS-ответ, в результате которого активируется экспрессия нескольких десятков генов. Ген *sulA(sfiA)* является частью SOS-регулона и кодирует белок SulA, который взаимодействует с подобным тубулину белком FtsZ, ответственным за процесс деления. Белок SulA ингибирует активность FtsZ, что приводит к филаментации клеток.

Предполагается, что в аэробных условиях в механизм бактерицидного действия хинолонов вовлечены активные формы кислорода (АФК): супероксид, перекись водорода и гидроксильные радикалы, продуцируемые с участием дыхательной цепи.В то же времяизвестно, что полифенолы обладают как антиоксидантными, так и антибактериальными свойствами. Целью данной работы было

исследование влияния предобработки *E. coli*экстрактами виноградной кожицы, красного вина и различных концентраций полифенола ресвератрола (1, 12, 40, 100 мкг/мл) на экспрессию гена *sulA* как маркера SOS-ответа при воздействии на бактерий 0.03, 0.3 и 3 мкг/мл ципрофлоксацина. За экспрессией *sulA* следили путем измерения активности β-галактозидазы по методу Миллера, модифицированному для иммунологических планшетов, в штамме *E. coli*NM3001, несущем слияние *sulA(sfiA)::lacZ*.

Исследование антиоксидантной активности испытуемых препаратов *invitro*показало, что максимальной радикал связывающей активностью обладал ресвератрол, эффективность которого была в 4.8 и в 15.8 раз выше, чем у экстрактов вина и кожицы, соответственно. При этом в отличие от экстрактов виноградной кожицы и вина, ресвератрол не проявлял способность к хелатированиюFe^{2+}. Обработка бактерий *E. coli*низкими дозами ресвератрола (1 и 12 мкг/мл) вызывала 1.2–1.3-кратную индукцию экспрессии *sulA*. Ципрофлоксацин стимулировал 2.7–4.3-кратное возрастание экспрессия *sulA* в течение 70 мин экспозиции к антибиотику с максимальным эффектом при дозе 0.3 мкг/мл. Предобработка бактерий 1–40 мкг/мл ресвератрола с последующей экспозицией к 0.03 мкг/мл ципрофлоксацинаоказывала аддитивное воздействие, усиливая экспрессию *sulA*, в то время как высокая доза ресвератрола (100 мкг/мл), а также экстракты кожицы и вина несколько ингибировали ответ, вызванный ципрофлоксацином. Модулирующий эффект предобработок на экспрессию гена *sulA* сохранялся при повышении дозы ципрофлоксацина до 0.3 мкг/мл, однако в этом случае ингибирующее действие экстрактов вина и виноградной кожицы возрастало в 1.5 раза. Ресвератрол в диапазоне от 12 до 100 мкг/мл усиливал экспрессию *sulA* в 1.3–1.5 раза при экспозиции бактерий к 3 мкг/мл антибиотика.При данной концентрации ципрофлоксацина вино и экстракт виноградной кожицы не оказывали существенного влияния на SOS-ответ.

Способность ресвератрола индуцировать экспрессиюгена *sulA*, включенного вSOS-ответ, и потенцировать ответ, связанный с действием ципрофлоксацина, может свидетельствовать об усилении повреждения ДНК при обработке ресвератролом. С другой стороны, более слабый эффект высоких доз ресвератрола по сравнению с его низкими концентрациями указывает на возможность регуляторного воздействия ресвератрола на индукцию SOS-ответа. Регуляция может осуществляться на уровне белка RecA, который совместно с LexAконтролирует SOS-ответ и содержит редокс-чувствительные SH-группы. Экстракт виноградной кожицы и вино могут не вызывать

аналогичного эффекта из-за низкого содержания в них ресвератрола и преобладающего количества других видов полифенолов. Модулирующее влияние отдельных полифенолов и созданных на их основе биологически активных добавок на чувствительность бактерий к антибиотикам и другим стрессовым факторам требует дальнейшего детального изучения и должно учитываться при антибиотикотерапии.

Исследования выполнены при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-04-96031 и 16-04-00762.

ШТАММЫ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПОДЗЕМНЫХ ВОДОЕМОВ ПЕЩЕР ОХОТНИЧЬЯ И БАДЖЕЙСКАЯ

Войцеховская И.В.[1,2], Аксёнов-Грибанов Д.В.[1,2], Протасов Е.С.[1,2], Скобин Г.А.[1], Тимофеев М.А.[1,2]

[1]*Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия.*
[2]*Научно-исследовательский институт биологии ИГУ, г. Иркутск, Россия.*

В ходе исследования из подземных озер пещер Охотничья и Баджейскаявыделено 13 штаммов актинобактерий. Установлено, что 7штаммов из пещеры Охотничья относились к роду *Streptomyces*, а 6штаммов из пещеры Баджейская- к роду *Nocardia*.

Для оценки способности штаммов к продуцированию биологически активных соединений штаммы культивировали глубинно на средах NL-19, Minimalmedia, SGG и ISP, после чего были проведены тесты на определение антибиотической активности экстрактов, полученныхиз биомассы и культуральной жидкости против тест-культур бактерий и грибов.Выявлено, что 5 из 13 штаммов актинобактерий обладают антибиотическойактивностью против ряда модельных штаммов, в том числе и противпатогенной *Candidaalbicans*.

Настоящее исследование проведено при частичной финансовой поддержке проектов МИНОБРНАУКИ РФ (ГЗ 6.382.2014/К), РНФ (14-14-00400), РФФИ (16-34-00686) и ФГБОУ ВПО «ИГУ».

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ

Гурина В.В., Нестёркина И.С.,
Озолина Н.В.

ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

Растения часто подвергаются воздействию природных неблагоприятных факторов, что приводит к нарушению обмена веществ и снижению продуктивности растений. Одно из основных условий существования растений – это способность приспосабливаться к отрицательным условиям среды. В современных научных исследованиях немало внимания уделяется изучению окислительного стресса, так как каждый абиотических стресс сопровождается окислительным стрессом. Одним из первых процессов, происходящих в клетках растений при действии любых стрессоров, является повышение проницаемости мембран.

Устойчивость ткани к окислительному стрессу чаще всего оценивают кондуктометрическим методом. Целью исследования явилось определение проницаемости клеточных мембран в тканях корнеплодах столовой свеклы при окислительном стрессе.

Объектом исследования служили корнеплоды столовой свеклы (Beta vulgaris L.), сорт Модана. Для создания окислительного стресса ткани корнеплода инкубировали в растворе 20, 50, и 200 мМ H_2O_2 в течение 1 ч. В контрольном варианте инкубацию проводили в дистиллированной воде. Сразу после окончания стрессового воздействия определяли проницаемость клеточных мембран по выходу электролитов из кубиков ткани в дистиллированную воду с использованием кондуктометра (ОК-104, Radelkis) с платиновым электродом. Затем раствор с растительным материалом доводили до кипения (для разрушения мембран) и давали ему остыть до комнатной температуры, после чего объем доводили до исходной величины и по электропроводности определяли полный выход электролитов. Степень выхода электролитов рассчитывали в процентах от полного выхода.

Результаты проведенных экспериментов показали, что выход электролитов из тканей корнеплода при инкубации в растворах 20, 50 и 200 мМ H_2O_2 увеличивался на 75%, 100% и 75% от контроля, соответственно. Исходя из этих данных видно, что достаточно сильное нарушение проницаемость мембран клетки происходит уже при

воздействии 20 мМ H_2O_2. Эта концентрация может быть использована в модельных экспериментах по созданию стрессового воздействия в тканях корнеплодах столовой свеклы с целью изучения динамики их биохимических и биофизических характеристик в дальнейших исследованиях.

СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ Taq ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ В ПЦР С ФЛУОРЕСЦЕНТНО-МЕЧЕННЫМИ ТРИФОСФАТАМИ ДЕЗОКСИУРИДИНА

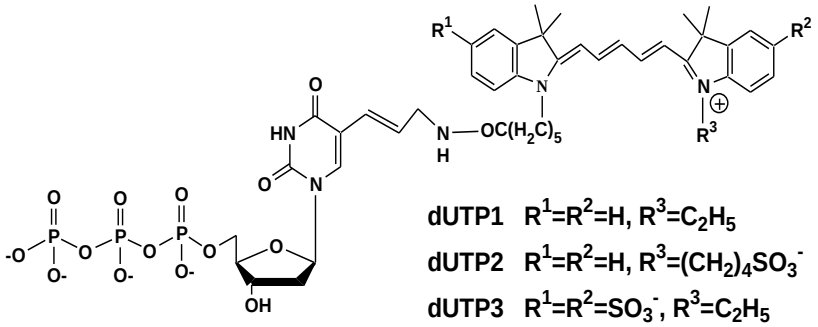
Гусейнов Т.О., Шершов В.Е., Кузнецова В.Е., Спицын М.А., Заседателева О.А., Василисков В.А., Лапа С.А., Заседателев А.С., Чудинов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН), Москва, Россия

Исследование субстратной специфичности ДНК-полимераз и модифицированных дезоксинуклеозидтрифосфатов позволило разработать ряд методов для изучения процессов связанных с функционированием нуклеиновых кислот. Энзиматическое копирование ДНК в ходе ПЦР под действием ДНК-полимераз с одновременным введением в синтезируемые *de novo* фрагменты ДНК модифицированных нуклеотидов позволяет придать синтезируемой ДНК новые функциональные свойства. Введение в ДНК флуоресцентных меток существенно увеличивает возможности ее визуализации. Для реализации такой возможности необходимы флуоресцирующие производные 5`-трифосфатов 2`-дезоксинуклеозидов, которые ДНК-полимераза воспринимает в качестве субстрата. Эффективность включения флуоресцентно меченных производных нуклеотидов ДНК полимеразами зависит от природы нуклеотида, места присоединения к нуклеиновому основанию красителя, химического строения линкера, связывающего основание с хромофором и химического строения хромофора.

Мы исследовали влияние химического строения хромофора, индодикарбоцианинового красителя, связанного с C5-положением трифосфата дезоксиуридина, на эффективность включения в ДНК флуоресцентно-меченных нуклеотидов Taq ДНК-полимеразой. Для этого синтезировали три производных дезоксиуридинтрифосфата (dUTP), связанных по C5-положению транс-алкеновой связью с

линкером, несущим индодикарбоцианиновые красители (dUTP **1-3**). Красители, входящие в состав dUTP (**1-3**), аналоги красителя Cy5, различаются природой и расположением заместителей. Суммарный электрический заряд красителя в dUTP **1** электроположительный, в dUTP **2** - электронейтральный, а в dUTP **3** - электроотрицательный. Трифосфаты dUTP (**1-3**) в фосфатно-солевом буферном растворе pH 7.4 имеет максимумы поглощения 639 нм, 639 нм и 649 нм, максимумы флуоресценции 655 нм, 655 нм и 662 нм, коэффициенты молярной экстинкции 110000, 190000 и 250000, квантовые выходы флуоресценции 0.15, 0.16 и 0.27, соответственно.



Субстратную специфичность Taq ДНК-полимеразы с флуоресцентно-мечеными трифосфатами dUTP (**1-3**) исследовали в симметричной ПЦР. В работе использовали следующие олигонуклеотиды: 5′-TCT CTT GCC GTT TCG TCT CTA AAT TGT CTT AAT GTC TTG TAT CCT TCT CTC TCA CCA CTT ACA TCC CC-3′ (матрица); Cy3–NH -5′-GGG GAT GTA AGT GGT GAG-3′(праймер P1); Cy3–N H -5′-TCT CTT GCC GTT TCG TC-3′(праймер P2). Праймеры P1 и P2 были мечены по 5′-концу аналогом красителя Cy3 с максимумами поглощения и флуоресценции 550 и 565 нм, соответственно. При проведении ПЦР в реакционную смесь объемом 25 мкл добавляли $2{,}5*10^{-6}$ М каждого праймера; 10^{-8} М матрицы; $5*10^{-4}$ М каждого из dATP, dCTP, dGTP, dTTP; 15 ед. (3 мкл) Taq-полимеразы (Sileks, Москва), буфер (70 мМ трис-HCl, 16,6 мМ $(NH_4)_2SO_4$, pH 8,6), 3 мМ $MgCl_2$ с добавлением одного из флуоресцентно-меченных dUTP (**1-3**) в различной концентрации. Продукты ПЦР анализировали методом электрофореза в денатурирующем полиакриламидном геле с регистрацией в свете флуоресценции красителей CY3 и CY5.

Найдено, что при добавлении 5% dUTP **1** происходит уменьшение количества полноразмерного продукта ПЦР по сравнению с ПЦР в присутствии природных dNTP, а при добавлении 20%

происходит полное ингибирование ПЦР. Добавление 5% dUTP **2** не влияет на количество полноразмерного продукта, но с увеличением количества dUTP **2** наблюдается уменьшение продукта ПЦР и при 50% содержании происходит полное ингибирование ПЦР. Отрицательно заряженный dUTP **3** практически не встраивается в продукт ПЦР, и как следствие не ингибирует ПЦР. Таким образом, в ходе ПЦР Taq-полимераза эффективнее встраивает дезоксиуридин dUTP **2**, несущий электронейтральный индодикарбоцианиновый краситель, аналог красителя Cy5.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российским научным фондом: грант № 14-14-01090.

ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИЕ ШТАММЫ В СИСТЕМЕ ОЦЕНКИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БАКТЕРИЦИДНЫХ СИСТЕМ ЧЕЛОВЕКА

Каримов И.Ф., Базарова Ю.Ю.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» г. Оренбург, Россия

Первые указания на возможность использования феномена бактериальной люминесценции в исследовательских, в том числе аналитических целях, представлены в работах M.W. Beijerinck. В России системные исследования феномена бактериальной биолюминесценции были начаты в Институте биофизики СО РАН на рубеже 60-ых годов XX века [1]. Возможность совершенствования технологии тестирования бактерицидных систем, основанной на использовании люминесцирующих бактерий, впервые была рассмотрена в работе исследователей M. Barak, S. Ulitzur и D. Merzbach [2]. Общим же моментом названных технологий оценки активности молекулярных систем является проведение тестирования в отношении лабораторных тест-штаммов микроорганизмов, удовлетворяющих требованиям высокой серочувствительности с одновременной возможностью экстраполяции полученных данных в отношении основных возбудителей инфекционных заболеваний, развитие которых контролируется активностью гуморальных бактерицидных систем [3].

Исследование и оценка бактерицидных систем человека и животных, формирующих систему их неспецифического врожденного иммунитета, остается одной из важных задач современной биологии и медицины. В связи с этим целью работы стала сравнительная оценка

бактерицидных свойств сыворотки крови с использованием люминесцирующих штаммов на основе родительских клеток *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Salmonella typhimurium*.

Возможностью использования люминесцирующих бактерий при оценке воздействия бактерицидных систем является сопряженность свечения, являющегося интегрированной частью метаболизма, и ростовой способности культуры. В связи с этим, в работе по оценке активности сыворотки крови нами были использованы как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии, основным фактором воздействия на которые являются система комплимента и катионные антимикробные пептиды.

На первом этапе была произведена сравнительная оценка кинетики свечения штаммов: *E.coli* K12 MG1655, *B.subtilis* EG168-1, *S.typhimurium* LT2 с использованием образцов сыворотки крови нормальных здоровых доноров. В целом, взаимодействие биосенсоров с различными концентрациями сыворотки крови выявило как сходства, так и различия в характере реакции всех трех штаммов на данное воздействие. Так, цельная сыворотка обеспечивала максимальный ингибирующий эффект, принципиально не отличимой для каждого из биосенсоров и характеризующийся подавлением свечения начиная с первых секунд контакта. По всей видимости, это в первую очередь связано с действием альбумина [4], проявляющего способность к неспецифическому связыванию миристинового альдегида и через истощение данного субстрата ведущего к подавлению активности бактериальной люциферазы [5].

Дальнейшее снижение концентрации сыворотки до 25 % и ниже вело к изменению характера кривой, особенности которой отличались для грамположительных и грамотрицательных биосенсоров. При контакте *Escherichia coli и Salmonella typhimurium* с 12,5 % нативной сывороткой крови в первые минуты регистрировался небольшой рост люминесценции, который затем сменялся лавинообразным падением свечения. Это связано с процессом активации белков системы комплемента преимущественно по классическому пути, что впоследствии ведет к формированию мембраноатакующего комплекса, сопровождающееся разрушением клеток с клеточной стенкой, построенной по грамотрицательному типу. После описанных событий свечение выходит на плато и не изменяется, что обусловлено израсходованием пула свободных факторов указанной системы, в результате чего дальнейшая ее активация не представляется возможной.

При этом интересным фактом является небольшое расхождение во времени наступления стационарного свечения, для *E.coli* K12 MG1655 составляющее от 90 до 100 секунд, а для *S.typhimurium* LT2 от 110 до 120 секунд, при этом угол падения свечения в первом случае составляет 67 градусов, а во втором – около 56 градусов, что и является показателем интенсивности литического процесса в отношении рассмотренных бактерий. Стоит отметить, что типичное время формирования мембраноатакующего комплекса составляет от 60 до 180 секунд в зависимости от активности входящих в ее состав элементов [6].

В случае *Bacillus subtillis* данная концентрация сыворотки крови не оказывала выраженного бактерицидного эффекта и только более высокие концентрации (свыше 25 процентов) приводят к плавному снижению свечения в течение всего эксперимента без выхода на плато.

Данное отличие характера реакции штамма *B.subtilis* EG168-1 в первую очередь определяется иной организацией клеточной стенкой, представленной пептитогликановым слоем, в результате чего на него наибольшее влияние оказывают термостабильные катионные пептиды, формирующие повреждения мембраны в виде тороидальных пор. При этом характер образования таких модификаций носит линейный характер, так как реакция не ферментативная, а опосредована электростатическим взаимодействием, а также не происходит каскадной активации, как в случае с системой комплемента. В результате тушение свечения имеет небольшой угол отклонения от горизонтали (около 23 градусов) и может быть описано линейным уравнением, начиная с 20 секунды.

Таким образом, определяющим фактором развития бактерицидности в отношении люминесцирующих бактериальных штаммов является характер структуры клеточной стенки, определяющий ведущий компонент, осуществляющей повреждение поверхностных структур, но не особенности экологии и физиологии микроорганизма.

Список литературы

1. Кратасюк, В.А. Использование светящихся бактерий в биолюминесцентном анализе / В.А. Кратасюк, И.И. Гительзон // Успехи микробиологии. – 1987. – Т.21. – С.3-30.

2. Дерябин, Д. Г. Бактериальная биолюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты / Д.Г. Дерябин // М.: Наука, 2009. – 246 с.

3. Roda, A. The possibility of detecting a few molecules using bioluminescence and chemiluminescence is exciting, especially in the

context of miniaturized analytical devices. / A. Roda, M. Guardigli, E. Michelini, M. Mirasoli, P. Pasini // Anal. Chem. 2003. – V.75. – N.21. – P. 462-470.

4. Дерябин, Д.Г. Обоснование оптимального режима опсонизации рекомбинантных люминесцирующих бактерий / Д.Г. Дерябин, Д.А. Грудинин, И.Ф. Каримов // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2006. – №12. – С.6-10

5. Makemson, J.C. Bovine serum albumin interacts with bacterial luciferase / J.C. Makemson, J.W. Hastings // J. Biolum. Chemilum. – 1991. – V.6. - № 2. – P.131-136.

6. Шавлюгин, Е.А. Математическая модель активации системы комплемента при участии контактной системы свертывания крови / Е.А. Шавлюгин, М.А. Ханин // Фундаментальные исследования. – 2012. – №1. – С.172-178.

БИОКОНВЕРСИЯ *ОРТО*- И *ПАРА*-ЗАМЕЩЕННЫХ ГОМОЛОГОВ ТИОАНИЗОЛА В (*R*)-СУЛЬФОКСИДЫ ГОРДОНИЯМИ

Кылосова Т.И.[1], Елькин А.А.[1,2]

[1]*ФГБОУ ВО “Пермский государственный национальный исследовательский университет”, г. Пермь, Россия.*
[2]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия.*

Хиральные арилалкилсульфоксиды (*п*-толилметилсульфоксид, фенилметилсульфоксид, 4-метоксифенилметилсульфоксид) широко используются в качестве строительных блоков в асимметрическом синтезе соединений с антигипертензивной, противоопухолевой, антибиотической активностью [1]. При получении энантиомерно однородных сульфоксидов из прохиральных сульфидов методами многостадийного химического синтеза не всегда достигается высокая энантиоселективность реакций. Биокаталитическое окисление прохиральных сульфидов до соответствующих сульфоксидов с использованием индивидуальных ферментов или целых клеток микроорганизмов позволяет получать целевые продукты с высокой степенью регио- и стереоселективности и в экологически безопасных условиях. Химический выход и оптическая чистота сульфоксидов, полученных путем бактериальной конверсии прохиральных сульфидов, варьируют в зависимости от использованного штамма, а

также структуры и концентрации сульфидного субстрата [2]. Актуальным является поиск штаммов-биотрансформаторов сульфидов с высокой каталитической активностью в отношении отличных по структуре органических сульфидов. В настоящее время в качестве перспективных трансформаторов сульфидов можно рассматривать непатогенные актинобактерии рода *Gordonia*, обладающие немицелиальным характером роста, выраженной лабильностью метаболических систем и высокой окислительной активностью в отношении сульфидов, присутствующих в сырой нефти [3].

Цель настоящей работы – исследование влияния расположения заместителей в фенильном кольце сульфидов на окислительную активность гордоний.

В работе использовали штамм *G. terrae* ИЭГМ 136 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов [4]. Процесс биотрансформации сульфидов осуществляли в минерально-солевой среде [5] в соокислительных условиях в присутствии *н*-гексадекана при постоянном перемешивании (160 об/мин) и 28 °С. В качестве посевного материала использовали бактериальные клетки (5,0±0,7x10^6 клеток/мл), выращенные на МПА и отобранные в экспоненциальной фазе роста, либо иммобилизованные в криогель на основе поливинилового спирта (200 гранул/100 мл). Иммобилизацию гордоний осуществляли согласно методике, описанной в работе [6]. Органические сульфиды в культуральную среду вносили в виде раствора в изопропаноле (1:10 v/v) одновременно с инокулятом либо через 2 сут инкубации бактерий. Продолжительность процесса биотрансформации составляла 3-6 сут.

Качественный состав продуктов биотрансформации после экстракции этилацетатом контролировали методами и хромато-масс-спектрометрии. Синтезированные сульфоксиды и сульфоны в индивидуальном виде получали с использованием флэш-хроматографии на приборе Buchi C-601/C-605 (Buchi, Германия). Энантиомерный избыток полученных сульфоксидов определяли методом хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии с помощью хроматографа LC Prominence (Shimadzu, Япония), оборудованного хиральной колонкой CHIRAL ART Amylose – SA (5µm, 250x4,6 mm ID) и диодноматричным детектором.

В сравнительных экспериментах с использованием свободных и иммобилизованных клеток *G. terrae* ИЭГМ 136 в качестве биокатализаторов процесса биотрансформации прохиральных сульфидов в качестве продуктов обнаруживались сульфоксиды с (*R*)-конфигурацией асимметрического центра. Выявлено, что на

сульфидокисляющую активность гордоний оказывало влияние природа заместителей, находящихся в *пара*-положении ароматического кольца тиоанизола. Биотрансформация *пара*-замещенных арилметилсульфидов с сильными электроноакцепторными группами (CN, NO_2, Cl, Br, F) в ароматическом кольце протекала с высокой степенью биоконверсии (88–100 %) и энантиоселективности (88,6–95,1 % *ее*). Для сульфидов с электронодонорными группами, *п*-толилметилсульфид и *п*-метоксифенилметилсульфид, уровни конверсии составляли 76,3–100,0 % с использованием свободных и 63,0–86,8 % – иммобилизованных клеток. Наличие атомов хлора, брома, а также аминогруппы в *орто*-положении фенилалкилсульфидов приводило к резкому снижению их уровня конверсии и образованию сульфоксидов с низкими значениями энантиомерного избытка (5–15 %).

Биотрансформация органических сульфидов в хиральные сульфоксиды свободными и иммобилизованными клетками *G. terrae* ИЭГМ 136

Сульфид R_1-S-R_2		Конверсия, %		Конфигурация сульфоксида	*ее*, %	
R_1	R_2	Св.*	Им.*		Св.	Им.
Ph	CH_3	100,0	100,0	*R*	93,2	95,2
o-ClPh	CH_3	29,3	62,8	*R*	4,4	15,2
o-BrPh	CH_3	9,3	61,6	*R*	8,2	15,8
n -CH_3Ph	CH_3	76,3	86,8	*R*	83,4	94,9
n -CH_3OPh	CH_3	100,0	63,0	*R*	82,0	20,8
o-CH_3OPh	CH_3	2,7	5,5	*R*	63,9	43,4
n-FPh	CH_3	100,0	88,2	*R*	88,2	89,8
n-BrPh	CH_3	100,0	100,0	*R*	93,6	94,5
n-ClPh	CH_3	100,0	93,1	*R*	92,6	88,6
n-NO_2Ph	CH_3	79,2	63,3	*R*	70,6	92,9
o-NH_2Ph	CH_3	1,4	10,8	*R*	54,9	16,2
n-CNPh	CH_3	95,3	98,0	*R*	99,9	95,1

*Св. – свободные клетки; Им. – иммобилизованные клетки. Концентрация сульфидов (г/л): свободные клетки – 0,5; иммобилизованные – 1,5.

Исследования выполнены в рамках государственного задания 6.1194.2014/К Минобрнауки России и поддержаны грантом РФФИ и Министерства образования и науки Пермского края (14–04–96006-р_урал_а).

Список литературы

1. Wojaczyńska E., Wojaczyński J. Enantioselective Synthesis of Sulfoxides: 2000-2009 // Chem. Rev. – 2010. – V. 110. – P. 4303–4356.

2. Matsui T., Dekishima Y., Ueda M. Biotechnological production of chiral organic sulfoxides: current state and perspectives // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2014. – V. 98. – P. 7699–7706.

3. Drzyzga O. The strengths and weaknesses of *Gordonia*: A review of an emerging genus with increasing biotechnological potential // Crit. Rev. Microbiol. – 2012. – V. 38, N. 4. – P. 300–316.

4. Catalogue of Strains of Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms. [Электронный ресурс]. 2016. URL: http://www.iegm.ru/iegmcol/strains/ (Дата обращения 08.05.2016).

5. Каталог штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов / Под ред. И.Б. Ившиной. – М.: Наука, 1994. – 163 С.

6. Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Gavrin A.Yu., Podorozhko E.A., Lozinsky V.I., Jeffree C.E., Philp J.C. Immobilization of hydrocarbon-oxidizing bacteria in poly(vinyl alchohol) cryogels hydrophobized using a biosurfactant // J. Microbiol. Methods. – 2006. – V. 65. – P. 596–603.

РОЛЬ ГРЕЛИНА В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ TREG И BREG

Орлова Е.Г., Логинова О.А., Ширшев С.В.

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г.Пермь, Россия

Исследованы эффекты пептидного гормона грелина в концентрации, сопоставимой с его уровнем в периферической крови при беременности, на экспрессию молекул, отражающих супрессорные свойства регуляторных Т- и В-лимфоцитов (Treg и Breg). Установлено, что грелин в концентрации, характерной для I-II триместра

беременности, повышает экспрессию низкоаффинного рецептора для TGF-β1 (GARP) на Treg ($CD4^+FOXP3^+$-Т-клетках) и количество Breg ($CD19^+CD25^{high}FOXP3^+$В-лимфоцитов), но снижает экспрессию PD-L1 (лиганда для мембранного белка PD1) на Breg, угнетающего активациию Т-лимфоцитов. Таким образом, грелин в концентрации, характерной для беременности, является значимым регулятором формирования и супрессорных свойств Treg и Breg.

Ключевые слова: грелин, Treg, Breg, экспрессия молекул

Грелин является пептидным гормоном, который контролирует чувство голода и аппетит, а также анаболические процессы и жировой обмен [1]. Гормон обладает выраженной иммунорегуляторной активностью, проявляя, главным образом, противовоспалительные свойства. При беременности грелин играет важную роль в реализации гестационных процессов, контролируя имплантацию, рост и развитие эмбриона. Его уровень в периферической крови при беременности увеличивается, поскольку гормон активно продуцируется плацентой [1]. При беременности происходят существенные изменения иммунореактивности организма матери, направленные на сохранение и выживание полуаллогенного плода, где ведущую роль играют Т- и В-регуляторные лимфоциты (Treg и Breg). Однако роль грелина в контроле свойств регуляторных Т- и В-лимфоцитов, участвующих в обеспечении иммунной толерантности при беременности, практически не изучена. Цель работы – исследовать влияние грелина в концентрации, характерной для беременности, на экспрессию молекул, отражающих супрессорный потенциал Treg и Breg.

Материалы и методы

В работе использовали фракционированную суспензию мононуклеарных клеток периферической крови условно здоровых женщин в возрасте от 20 до 37 лет, находящихся в фолликулярной фазе (4-11 день) менструального цикла. Суспензию мононуклеаров получали центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина (1.077 г/см^3). Далее методом иммуномагнитной сепарации из суспензии мононуклеаров выделяли $CD4^+CD25^{bright}$ Т-лимфоциты (Dynabeads Regulatory $CD4^+CD25^+$ T-cell Kit, «Invitrogen», США) и $CD19^+CD25^{high}$ В-лимфоциты (MagCellect Human B Cell Isolation Kit, «R&D», США; $CD25^+$ Isolation Kit, «R&D», США). Чистота выделения контролировалась методом проточной цитометрии с помощью соответствующих моноклональных антител и составляла 78-85%.

Для культивирования (3 суток при 37°С, в условиях 5% CO_2) клеточной суспензии использовалась полная питательная среда на

основе RPMI-1640, с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 1 мМ Hepes, 2 мМ L-глутамина и 200 Ед/мл гентамицина. Грелин вносили в концентрации, характерной для I-II триместра беременности – 1,25 нг/мл [2]. После инкубации с гормоном оценивали количество Breg как процент $CD19^{+}CD25^{high}$-лимфоцитов (Anti-Human CD19 FITC, clone CatNFAB486F, «R&D», США; Anti-Human CD25 PE, clone BC96, «eBioscience», США), экспрессирующих внутриклеточный IL-10 (Anti-Human IL-10 AlexaFluor® 488, clone JES3-9D7, «eBioscience», США), либо транскрипционный фактор FOXP3 (Mouse Anti-Human FoxP3 PerCP Cy5.5, clone 236A/E7, «BD Pharmingen™», США) [3]. В культурах Treg определяли процентное содержание $CD4^{+}CTLA\text{-}4^{+}FOXP3^{+}$ и $CD4^{+}GITR^{+}FOXP3^{+}$, $CD4^{+}GARP^{+}FOXP3^{+}$ в гейте $CD4^{+}FOXP3^{+}$ лимфоцитов (PE anti-human CD152, 14D3; PE anti-human GITR, TNFRSF18; PE anti-human GARP, 14D3, “eBioscience”, США). Окрашивание поверхностных и внутриклеточных маркеров осуществляли согласно методике производителя моноклональных антител. Результаты выражали в виде средней арифметической и ее среднего отклонения (M±m). Достоверность различий между группами оценивали по критерию Вилкоксона для парных зависимых выборок и по критерию Стьюдента в зависимости от типа распределения данных. Различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Согласно современным представлениям, к Breg относятся $CD19^{+}CD25^{high}$ B-лимфоциты, экспрессирующие FOXP3 и IL-10 [4]. Breg вместе с Treg являются ведущими эффекторами периферической толерантности и играют критическую роль в поддержании аутотолерантности и предотвращении аутоиммунных процессов [4]. Breg осуществляют иммуносупрессию, вступая во взаимодействие с $CD4^{+}$-T-лимфоцитами, в том числе через молекулы PD-L1,2 и продукцию IL-10 [5], угнетая их пролиферацию [6], регулируют выработку провоспалительных цитокинов и индуцируют апоптоз [7]. Отмечено, что количество Breg и Treg нарастает при беременности [8]. Активация Breg происходит, главным образом, через toll-подобные рецепторы, т.е. на более ранних этапах иммунного ответа, чем Treg [9]. Поэтому полагают, что именно Breg являются основными индукторами формирования адаптивных Treg [4]. Реализация супрессорной функции Treg осуществляется путем непосредственного взаимодействия мембранных молекул Treg (CTLA-4, GITR, GARP) со своими лигандами на эффекторных клетках [10], что вызывает их анергию. Установлено, что грелин в концентрации, характерной для I-

II триместра беременности, повышает число $CD19^{+}CD25^{high}$-клеток, экспрессирующих FOXP3, и угнетает экспонирование поверхностных PD-L1 (таблица), а также не влияет на экспрессию внутриклеточного IL-10 в $CD19^{+}CD25^{high}$-клетках. Грелин усиливает экспрессию молекулы GARP (Glycoprotein A repetitions predominant) - рецептора для низкоаффинного TGF-β1 на Treg, не влияя на количество $CD4^{+}FOXP3^{+}$-лимфоцитов, экспрессирующих CTLA-4 (гомолога CD28, конститутивно экспрессирующегося на Treg и обладающего высокой авидностью к CD80/86 [10]) и GITR, индуцируемого глюкокортикоидами TNF-рецептора, который конститутивно экспрессируется на Treg.

Влияние грелина на экспрессию молекул $CD19^{+}CD25^{high}$ и $CD4^{+}FOXP3^{+}$-лимфоцитами

Экспериментальное воздействие	$CD19^{+}CD25^{high}$, %			$CD4^{+}FOXP3^{+}$, %		
	$IL\text{-}10^{+}$ (n=6)	$FOXP3^{+}$ (n=6)	$PD\text{-}L1^{+}$ (n=6)	$CTLA\text{-}4^{+}$, (n=6)	$GITR^{+}$, (n=4)	$GARP^{+}$, (n=4)
Контроль	1,82±0,86	49,5±3,3	6,50±2,00	64,6±17,1	72,4±10,4	94,3±5,7
Грелин 1,25нг/мл	2,46±0,89	54,5±2,3*	5,43±1,57*	72,5±19,3	82,1±4,7	96,7±3,3*

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что грелин в концентрации, характерной для беременности, способствует формированию Breg и регулирует супрессорные свойства обеих регуляторных субпопуляций (Treg и Breg), что раскрывает новый механизм участия грелина в формировании иммунной толерантности в период физиологически протекающей беременности.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-05670.

Список литературы

1. Tena-Sempere, M. Roles of ghrelin and leptin in the control of reproductive function / M. Tena-Sempere // Neuroendocrinology, 2007.-V.86.-P.229-241.
2. Fuglsang, J. Ghrelin and its relationship to growth hormones during normal pregnancy / J.Fuglsang, C.Skjaerbaek, U. Espelundye et al. // Clin. Endocrinol, 2005.-V.62.-P.554- 559.
3. Kessel, A. Human $CD19^{(+)}CD25^{(high)}$ B regulatory cells suppress proliferation of $CD4^{(+)}$ T cells and enhance Foxp3 and CTLA-4 expression in T-regulatory cells / A. Kessel, T. Haj, R. Peri et al. // J. Autoimmun. Rev, 2012.-V.11.-P. 670-677.

4. Noh, G. Regulatory B cells and allergic diseases / G. Noh, J.H. Lee // Allergy Asthma Immunol. Res., 2011.-V.3.-P.168-177.
5. Klinker, M.W. Multiple mechanisms of immune suppression by B-lymphocytes / M.W. Klinker, S.K. Lundy // Mol. Med, 2012.-V.18.-P.123-137.
6. Liu, Y. Role of IL-10-producing regulatory B cells in control of cerebral malaria in Plasmodium berghei infected mice / Y. Liu, Y. Chen, Z. Li et al. // Eur. J. of Immunology, 2013.-V.43, № 11.-P.2907-2918.
7. Carter, N.A. Interleukin-10 produced by B cells is crucial for the suppression of Th17/Th1 responses, induction of T regulatory type 1 cells and reduction of collagen-induced arthritis / N.A. Carter, E.C. Rosser, C. Mauri // Arthritis Research and Therapy, 2012.-V.14, №. 1.-A. R32.
8. Rolle, L Cutting edge: IL-10-producing regulatory B cells in early human pregnancy / L. Rolle, M. Memarzadeh Tehran, A. Morell-García et al. // Am. J. Reprod. Immunol, 2013.-V.70.-P.448-453.
9. Miles, K. A tolerogenic role for Toll-like receptor 9 is revealed by B-cell interaction with DNA complexes expressed on apoptotic cells / K. Miles, J. Heaney, Z. Sibinska et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012.-V.109, № 3.-P.887-892.
10. Ярилин, А.А. Иммунология / А.А. Ярилин // ГОЭТАР-Медиа. - М. - 2010. - 752 с.

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* 25, СПОСОБНОГО К ЭНАНТИОСЕКТИВНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ АМИДА ИБУПРОФЕНА

Луговская Н.П.[1], Максимов А.Ю.[1,2]

[1]*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия.*
[2]*ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов» УрО РАН, г. Пермь, Россия.*

В последнее время поиск активных культур бактерий-биотрансформантов и изучение их ферментных систем, разработка на их основе биокаталитических технологий, являются перспективными для микробиологии и биотехнологии [Parshikov *et al*., 2014]. Арилпропионамиды представляют интерес тем, что могут быть использованы в качестве субстратов для стереоселективных нитрилконвертирующих ферментов, так как продукты их гидролиза - соответствующие кислоты, известные также как профены,

представляют важный класс противоспалительных препаратов с активным (*S*)-изомером [Sonawane *et al*., 1992; Snell, Colby, 1999; Graham, Williams, 2004].

Объектом исследования являлся штамм *R. erythropolis* 25, который был выделен методом прямого высева из грунта вблизи солеотвала СКРУ-2 Соликамского района Пермского края на агаризованной минеральной солевой среде, содержащей 10 мМ ацетонитрил в качестве источника углерода и азота. Идентификация проведена стандартными микробиологическими и биохимическими методами, а также с помощью ПЦР-анализа.

Была исследована способность клеток *R. erythropolis* 25 использовать в качестве источника азота, углерода и энергии простые алифатические (ацетонитрил, пропионамид), а также более токсичные ароматические нитрилы и амиды (бензамид, бензонитрила, фенилацетонитрил) в концентрации 10 мМ. Установлено, что штамм способен использовать для роста все исследуемые субстраты. Наиболее активно утилизировались амидосоединения, что вероятно связано с высокой активностью амидазы (КФ 3.5.1.4).

Исследовано наличие в геноме *R. erythropolis* 25 последовательностей, гомологичных генам амидаз, нитрилгидратаз и нитрилаз известных типов. Установлено, что данный штамм имеет гены субъединиц Fe- зависимой нитрилгидратазы и энантиоселективной амидазы, гомологичные генам ферментов из *R. rhodochrous* N-774, а также нитрилазы, родственной ферменту из *R. rhodochrous* K22. Гены кобальтсодержащих нитрилгидратаз не обнаружены.

Исследовано проявление нитрилгидратазной и амидазной активностей по отношению к акрилонитрилу или акриламиду в процессе роста изолята на 10 мМ ацетонитриле. Установлено, что для исследуемого штамма пик нитрилгидратазной активности (10.73 мкмоль/мг/мин) наблюдался через 48 часов культивирования в логарифмической фазе роста, а амидазной (5.51 мкмоль/мг/мин) – после выхода в стационарную фазу, через 72 часа.

Проведены эксперименты по исследованию влияния температуры и кислотности реакционной среды на удельную активность фермента, наблюдаемую при конверсии акриламида целыми клетками в течение 10 мин.

Установлено, что амидаза *R. erythropolis* 25 характеризуется термостабильностью. Высокая активность сохранялась в интервале температуры от 50° до 65°. Максимум активности в условиях проводимого анализа проявлялся при 55°С.

При изучении влияния кислотности среды установлено, что амидазная активность максимальна при pH=7. В то же время максимальная скорость гидролиза ибупрофенамида наблюдалась при pH 8.3, что, вероятно, связано со значительным увеличением его растворимости в щелочной среде. Таким образом, если фермент способен работать в слабощелочных условиях, биокаталитическую реакцию рациональнее проводить в слабощелочной среде.

Исследовано влияние кислотности среды на протекание реакции биотрансформации ибупрофена. Трансформацию проводили в водной среде (деионизованная вода), либо калий-фосфатном буфере pH 7.9-8.6. Амид как субстрат вносили до концентрации 1-20 мг/мл. По мере трансформации добавляли новые порции субстрата. Клетки добавляли в реакционную среду из расчёта 1 г сухого веса на 100 мл среды. Трансформацию проводили при температуре 30°C и перемешивании 100 об/мин. Концентрацию продукта в надосадочной жидкости анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В данных условиях процент трансформированного субстрата за 6 часов биокаталитической реакции составил 48.2±1.8. Нетрансформированный *R*–энантиомер после рацемизации может быть возвращен в биокаталитический процесс биотрансформации.

Проведен сравнительный анализ полученных результатов по трансформации ибупрофенамида с опубликованными ранее данными в литературных источниках. Показано, что клетки штамма *R. erythropolis* 25, выделенного из образцов грунта вблизи солеотвала обладают более высокой конвертирующей способностью по сравнению с известными штаммами (Yamamoto, Komatsu, 1991; Bauer, 1994; Beard *et al*., 1998; Snell, Colby, 1999; Wieser, Nagasawa, 2000; Lievano *et al*., 2012). Возможно, это связано с оптимизацией условий реакции трансформации: более щелочная среда, способствующая повышению растворимости субстрата, что приводит к увеличению скорости реакции.

Таким образом, селекционирован штамм *R. erythropolis* 25, обладающий высокой амидазной активностью и способный к энантиоселективной трансформации амида ибупрофена с высоким выходом *S*-ибупрофена. Определены условия реакции биотрансформации. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности данного штамма для биотехнологической и фармацевтической промышленности.

Исследования выполнены при поддержке Государственного задания Минобрнауки России № 6.1194.2014/K.

Список литературы:

1. Parshikov I. A., Silva E. O., Furtado N. A. J. C. Transformation of saturated nitrogen-containing heterocyclic compounds by microorganisms // Applied Microbiology and Biotechnology. 2014. V. 98. P. 1497–1506.

2. Sonawane H.R., Bellur N.S., Ahuja J.R. et al. Recent devepments in the synthesis of optically active a-arylpropanoic acids: an important class of non-steroidal anti-inflammatory agents // Tetrahedron Asymetry. 1992. V. 3 (2). P.163-192.

3. Snell D., Colby J. Enantioselective hydrolysis of racemic ibuprofen amide to S-(1)-ibuprofen by Rhodococcus AJ270 // Enzyme and Microbial Technology Journal. 1999. V. 24. P. 160–163.

4. Graham G.G., Williams K.M. Metabolism and pharmacokinetics of ibuprofen // In: Rainsford KD (ed) Aspirin and related drugs. Taylor & Francis, London. 2004. P. 157–180.

5. Yamamoto K., Komatsu K. Purification and characterization of nitrilase responsible for the enantioselective hydrolysis from *Acinetobacter* sp. AK226. // Agricultural and Biological Chemistry. – 1991. V. 55. P. 1459-1466.

6. Beard T. M. Enantioselective biotransformations using rhodococci // Journal Antonie Van Leeuwenhoek. 1998. V. 74. P. 99–106.

7. Bauer R., Hirrlinger B., Layh N. et al. Enantioselective hydrolysis of racemic 2-phenylpropionitrile and other (R,S) 2-arylpropionitriles by a new bacterial isolate, *Agrobacterium tumefaciens* strain d3 // Applied Microbiology and Biotechnology. 1994. V. 42. P. 1-7.

8. Wieser M., Nagasawa T. Stereoselective nitrile-converting enzymes. // In Patel RN. Stereoselective Biocatalysis. 2000. P. 461-486.

9. Lievano R., Perez H.I. , Manjarrez N. et al. Hydrolysis of ibuprofen nitrile and ibuprofen amide and deracemisation of ibuprofen using *Nocardia corallina* B-276 // Molecules. 2012. V. 17. P. 3148-3154.

CA^{2+} АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК CA3 ПОЛЯ СРЕЗОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПОЗДНЕГО (P21-25) НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВОЗБУЖДАЮЩИХ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ

Митаева Я.И.

ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

В данной работе с использованием конфокальной микроскопии были исследованы спонтанные и вызванные изменения внутриклеточного кальция ($[Ca^{2+}]_i$) в нейронах и астроцитах CA3 поля переживающих срезов гиппокампа крыс позднего (P21-25) неонатального периода постнатального онтогенеза.

Увеличение частоты спонтанных $[Ca^{2+}]_i$ сигналов в нейронах связано с активацией и ускорением метаболических процессов в клетках и повышением выброса в синаптическую щель нейротрансмиттеров, стимулирующих появление спонтанных изменений $[Ca^{2+}]_i$ в нейронах. Среди веществ, способных вызвать временное изменение $[Ca^{2+}]_i$, наиболее изученными являются глутамат и АТФ. В состоянии покоя животного, в гиппокампе уровень внеклеточного глутамата колеблется от 1 до 2 мкМ, а уровень АТФ составляет 100 нМ. А концентрация данных веществ в 20 мкМ считается полумаксимальной эффективной концентрацией и может наблюдаться при повышенной активности мозга, например, во время исследовательского поведения животного. Чтобы избежать возможности распространения потенциалов вдоль мембраны в перфузионный раствор добавлялся блокатор Na^+ каналов тетродотоксин (TTX) в концентрации 1 мкМ, при этом частота и длительность $[Ca^{2+}]_i$ сигналов не изменялись. Полученные результаты позволяли нам предположить, что получаемые данные отображали процессы, происходящие в отдельной наблюдаемой клетке.

Было показано, что при добавлении в перфузионный раствор агониста P2.- рецепторов АТФ (20 мкМ), происходит увеличение количества Ca^{2+} осцилляций в клетках поля CA3 гиппокампа крыс: в пирамидных нейронах на 100%, в интернейронах на 85%, в астроцитах в 2 раза. А при добавлении в перфузионный раствор агониста рецепторов глутамата - L-глутамата (20 мкМ) было зарегистрировано увеличение количества Ca^{2+} осцилляций в клетках поля CA3

гиппокампа крыс: в пирамидных нейронах на 71%, в интернейронах на 42%, в астроцитах на 100%. Проведенное исследование позволило оценить зависимость Ca^{2+} активности клеток поля CA3 гиппокампа крыс позднего (P21-25) неонатального периода постнатального онтогенеза от метаболического состояния клеток, связанного с повышением выброса в синаптическую щель нейротрансмиттеров. Кроме того, было показано, что в условиях зрелой сети, когда спонтанная Ca^{2+} активность клеток низка при условии сохранения проведения возбуждения по нейронной сети добавление возбуждающих нейротрансмиттеров вызывало строгую синхронизацию активности клеток.

Работа поддержана стипендией Президента РФ (СП-1531.2015.4).

ОЧИСТКА БЕЛКА GLNR ИЗ *LACTOBACILLUS PLANTARUM 8 PA3* И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА CHiP-МЕТОДОМ

Неустроева О.А., Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

Азот является одним из основных макроэлементов, необходимых для синтеза различных веществ, таких как аминокислоты, белки, витамины, нуклеиновые кислоты, поддерживающих жизнедеятельность клеток. Глутамин и ионы аммония -это предпочтительные источники азота, так как не требуют больших энергозатрат от клетки для усвоения. У бактерий рода *Lactobacilli* процессы, отвечающие за усвоение азота, практически не изучены. В геноме *Lactobacillus plantarum* 8PA3 мы идентифицировали ген *glnR,* кодирующий фактор транскрипции. Гомологи данного белка у многих бактерий являются регуляторами азотного обмена и становятся активными в условиях избытка азота. Ранее было выявлено, что у *Bacillus subtilis*, имеющих 84% гомологии данного белка с *L.plantarum* 8PA3, GlnR образует комплекс, состоящий из двух молекул белка и молекулы глутаминсинтетазы, и является фактором транскрипции оперона *glnA.* В отсутствие глутаминсинтетазы, комплекс также образуется, но в меньшем количестве.

Целью работы являлось получить очищенный рекомбинантный белок GlnR и идентифицировать промотеры-мишени данного белка в клетках *L.plantarum* 8PA3. Для этого были получен рекомбинантные штаммы *E.coli* BL21 pET15b-LpGlnR, способный к гиперпродукции рекомбинантного белка LpGlnR с N-концевой гексагистидиновой последовательностью и *E.coli* BL21 pASK-LpGlnR способный к гиперпродукции рекомбинантного белка LpGlnR со StrepII тагом. Белки очищены до электрофоретической гомогенности на Ni-NTA сефарозе(pET15b-LpGlnR) и на колонке Strep-tag(pASK-LpGlnR). Далее этот белок будет использован для определения образования белкового комплекса, в клетках *L.plantarum 8PA3*, путем метода иммунопреципитации с геномной ДНК *L.plantarum* 8PA3.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-04-02583а.

ОСОБЕННОСТИ БИОМОРФОЛОГИИ МНОГОЛЕТНЕГО ЗЛАКА *BROMOPSISINERMIS(Leyss.)* С ПОЗИЦИИ МОДУЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ В ДОЛИНЕ СРЕДНЕЙ ЛЕНЫ

Павлова А.А.

Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова, г. Якутск, Россия.

Злаки (*Poaceae*) наиболее важное в хозяйственном отношении семейство цветковых растений. Процессы побегообразования злаков играют решающую роль в формировании урожая надземной массы злаков, определяют многолетность и многоукосность их травостоя, и поэтому их изучение представляет как практический, так и научный интерес. Образование разнотипных побегов в пределах особи и формирование значительного количества почек возобновления обеспечивает большинству злаковых растений быстрое отрастание (Серебрякова, 1971, Курченко, 2010).

Цель - выявить структурные особенности многолетнего длиннокорневищного злака костреца безостого (Bromopsisinermis(Leyss.)Holyb). Применяли структурно-морфологический метод анализа растений с выделением трех категорий модулей: элементарного, универсального и основного (Серебряков, 1952, 1962; Серебрякова, 1971; Савиных, 2002).

На рис. 1 представлены элементарные модули Bromopsisinermis.

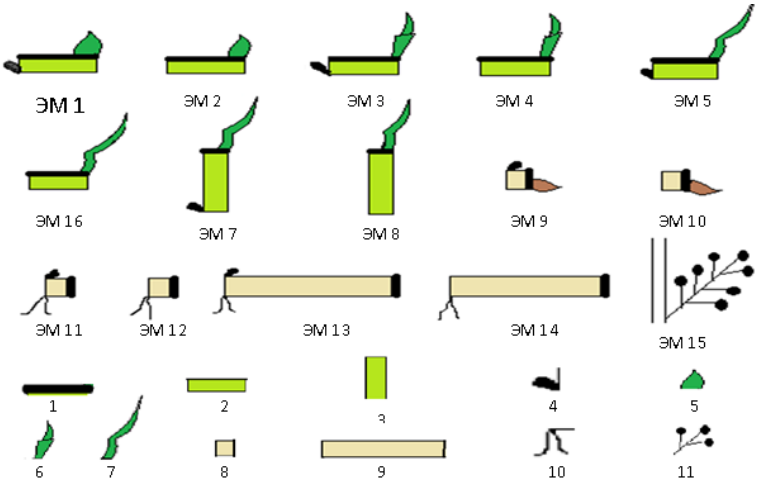


Рис.1. Элементарные модули *Bromopsisinermis*(L.): 1- узел; 2 - короткое междоузлие; 3- удлиненное междоузлие; 4- почка; 5- чешуевидный лист; 6 - переходной лист; 7 - лист срединной формации; 8 - короткое междоузлие корневища; 9 - удлиненное междоузлие корневища; 10 - придаточные корни;

Изучение и структурный анализ строение побегов вида показал, что разнообразие элементарных модулей (ЭМ) основано на различиях фитомеров по длине междоузлия (длинное, короткое), наличию или отсутствию пазушной почки, типу листа (чешуевидный, или катафилл, лист переходного типа или срединной формации (рис. 1).

Совокупность элементарных модулей образует одноосный побег, или универсальный модуль. Разнообразие универсальных модулей вида определяется различием их структурно–функциональных зон, разнообразием типов элементарных модулей, типом возобновления (интравагинального или экстравагинального), направлением роста (апогеотропного, косоапогеотропного, диагеотропного) и наличием или отсутствием соцветия (рис. 2).

Основной модуль – пространственно-временная структура, формирующаяся на основе целого универсального модуля или его части и закономерно повторяющаяся у зрелых генеративных особей (табл.)

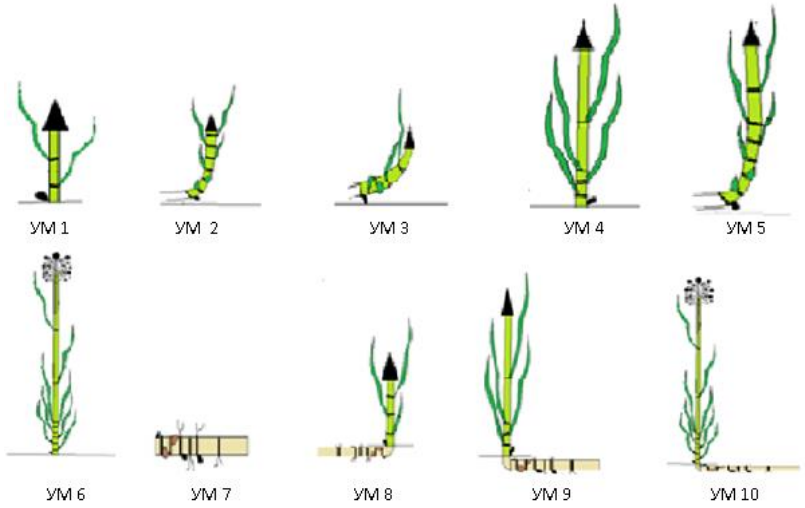


Рис. 2. Универсальные модули *Bromopsisinermis*(L.): УМ 1- интравагинальный вегетативный розеточный побег, растущий апогеотропно; УМ 2- экставагинальный вегетативный розеточный побег, растущий апогеотропно; УМ 3- экставагинальный вегетативный розеточный побег, растущий косоапогеотропно; УМ 4- полурозеточный интравагинальный вегетативный побег, растущий апогеотропно; УМ 5- полурозеточный экставагинальный вегетативный побег, растущий апогеотропно; УМ 6- полурозеточный генеративный побег; УМ 7- бахромчатая корневая система; УМ 8- розеточный побег с корневищем; УМ 9- полурозеточный побег с корневищем; УМ 10- полурозеточный генеративный побег с корневищем.

Разнообразие модулей разного ранга *Bromopsisinermis(Leyss.)*

Элементарные модули.		
ЭМ 1 = У + $М_К$ +П + $Л_Ч$;	**ЭМ 6** = У + $М_К$ + Л;	**ЭМ 11** = У + $М_К$ +П + $П_К$
ЭМ 2 = У + $М_К$ + $Л_Ч$;	**ЭМ 7** = У + $М_Д$ +П + Л	**ЭМ 12** = У + $М_К$ + $П_К$
ЭМ 3 = У + $М_К$ +П + $Л_П$;	**ЭМ 8** = У + $М_Д$ + Л	**ЭМ 13** = У + $М_Д$ +П + $П_К$
ЭМ 4 = У + $М_К$ + $Л_П$;	**ЭМ 9** = У + $М_К$ +П + $Л_Ч$	**ЭМ 14** = У + $М_Д$ + $П_К$
ЭМ 5 = У + $М_К$ +П + Л;	**ЭМ 10** = У + $М_К$ + $Л_Ч$	**ЭМ 15** = У + Мд + П
Универсальные модули		
УМ 1 = ЭМ 5 + ЭМ 6;	**УМ 5** = ЭМ 1 + ЭМ 2 + ЭМ 3 + ЭМ 4 + ЭМ 5 + ЭМ 6 + ЭМ 7 + ЭМ 8;	**УМ 8** = ЭМ 1 + ЭМ 2 + ЭМ 3 + ЭМ 4 + ЭМ 5 + ЭМ 6 + ЭМ 9 + ЭМ 10 + ЭМ 11 + ЭМ 12 + ЭМ 13 + ЭМ 14;
УМ 2 = ЭМ 2 + ЭМ 3 + ЭМ 4 + ЭМ 5 + ЭМ 6;	**УМ 6** = ЭМ 7 + ЭМ 8 + ЭМ 15	**УМ 9** = ЭМ 1 + ЭМ 2 + ЭМ 3 +
УМ 3 = ЭМ 2 + ЭМ 3 + ЭМ 4 + ЭМ 5 + ЭМ 6;		

УМ 4 = ЭМ 5 + ЭМ 6 + ЭМ 7 + ЭМ 8;	**УМ 7** = ЭМ 9 + ЭМ 10 + ЭМ 11 + ЭМ 12 + ЭМ 13 + ЭМ 14;	ЭМ 4 + ЭМ 5 + ЭМ 6 + ЭМ 7 + ЭМ 8 + ЭМ 9 + ЭМ 10 + ЭМ 11 + ЭМ 12 + ЭМ 13 + ЭМ 14; **УМ 10** = ЭМ 7 + ЭМ 8 + ЭМ 15 + ЭМ 9 + ЭМ 10 + ЭМ 11 + ЭМ 12 + ЭМ 13 + ЭМ 14
Основные модули		
ОМ 1 = УМ 1 +УМ 2; **ОМ 2** = УМ 1 + УМ 2 + УМ 3+УМ 4 + УМ 5;	**ОМ 3** = УМ 1 + УМ 2 + УМ 3+УМ 4 + УМ 5 + УМ 7+ УМ 8+ УМ 9 + УМ 10; **ОМ 4** = УМ 1 + УМ 2 + УМ 3+УМ 4 + УМ 5 + УМ 6;	**ОМ 5** = УМ 4 + УМ 5 + УМ 6; **ОМ 6** = УМ 3+УМ 4 + УМ 5 + УМ 7+ УМ 8+ УМ 9 + УМ 10 + УМ 6.

Таким образом, биоморфологическое изучение *Bromopsisinermis* показало высокую степень его структурной (морфологической) поливариантности. Многолетний длиннокорневищный злак имеет 15 типов элементарных модулей, которые образуют 10 типов универсальных модулей. Комплекс последних формирует 6 типов основных модулей.

Поливариантность типов модулей разного ранг обеспечивает виду существование в разных местообитаниях и в постоянно изменяющихся условиях обитания.

ОБОСНОВАНИЕ МАРКЕРНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ АЭРОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИОРИТЕТНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕДПРИЯТИЯ ПО ПРОИЗВОДСТВУ АЛЮМИНИЯ

Пескова Е.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия.
ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия.

Загрязнение атмосферного воздуха промышленно развитых территорий является острой проблемой в Российской Федерации. Существенный вклад в загрязнение вносят выбросы производства цветной металлургии, в частности, алюминиевой промышленности. Вклад выбросов предприятий от источников производства алюминия в

общий объем выбросов в атмосферу от стационарных источников территорийдостигает 70%, в том числе по алюминию и его соединениямпрактически 100%.

Алюминий и его соединения относятся к высокотоксичным соединениям (3 класс опасности),критическими органами и системами которых являются: центральная нервная система (ЦНС), костная система, органы дыхания.

Анализ заболеваемости населения, проживающих в зоне влияния выбросов алюминиевого производства, свидетельствует о стабильном превышении уровня первичной заболеваемости и неблагоприятной динамике у детей в среднем в 1,5 раза по болезням органовдыхания, костно-мышечной системы, врожденным порокам развития.

Целью работы являлосьобоснование маркерных биохимических показателей негативных эффектов у детей в условиях аэрогенного воздействия приоритетных химических факторов в зоне влияния предприятия по производству алюминия.

Материалы и методы.Проведено обследование детей 5-10 лет, постоянно подвергающихся негативному воздействию приоритетных факторов риска в зоне влияния выбросов от источников производства алюминия (на примере г. Братска – группа наблюдения) и детей, проживающих в отсутствии экспозиции химических факторов, обусловленных выбросами в атмосферный воздух алюминиевого производства (на примере пгт Листвянка, Иркутская область – группа сравнения). Общее количество обследуемого населения составило 180 человек (100 человек – группа наблюдения, 80 человек – группа сравнения).

Исследование включало в себя определение содержания алюминия в моче обследуемых детей, комплекс биохимических показателей, позволяющих оценить состояние критических органов и систем (костная ткань: уровень ионизированного кальция, фосфора и магния в цельной крови) и связанных с ними процессов (оксидантные и антиокислительные процессы:малоновыйдиальдегид и антиоксидантная активность плазмы крови) при хроническом ингаляционном воздействии алюминия.

Исследование содержания алюминия в моче выполнено методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ISP-MS)[1]. Результаты содержания алюминия в моче детей группы наблюдения оценивали на основании сравнительного анализа с результатами детей контрольной группы и референтных пределов [2].

Результаты и обсуждение. По данным сравнительного анализа уровня алюминия в мочеустановлено, что среднее содержание алюминия в моче детей группы наблюдениясоставило 0,036±0,00423 мкг/см^3, что в 4,6 раза(93,5 % проб) выше, чем в моче детей контрольной группы(p=0,000) и в 5,5 раз выше референтного уровня.Повышенное содержание алюминия в моче может привести к развитию дисбаланса со стороныоксидантных и антиокислительных процессов, нарушению структуры костной ткани в организме детей.

По результатам исследований оксидантных и антиокислительных процессов, частота встречаемости проб крови с повышенным содержанием малоновогодиальдегида в плазме крови детей группы наблюдения составила63%.При этом, среднее значение данного показателя у детей группы наблюдения составило 2,837±0,117 ммоль/см^3, что в 1,2 раза выше относительно рассматриваемого показателя детей контрольной группы(p=0,000).Выявлено, что антиоксидантная активность плазмы крови у детей группы наблюдения ниже физиологической нормы.Частота встречаемости проб крови с пониженным содержанием антиоксидантной активности плазмы крови составила 54%, что в 1,7 раз выше показателя у детей контрольной группы.Развитие негативных эффектов, связанных с отклонениями показателей малоновогодиальдегида и антиоксидантной активности плазмы крови, свидетельствуюто развитии дисбалансаоксидантных и антиокслительных процессов в организме, которые могут усугубить нарушение баланса макроэлементов в костной ткани.

По результатам исследования установлено, что частота регистрации проб с повышенном содержанием ионизированного кальция в крови детей группы наблюдения составило 93%. При этом, среднее значение данного показателя у детей группы наблюдения составило 1,173±0,013 ммоль/л,что в 1,6 раз выше относительно рассматриваемого показателя детей контрольной группы(p=0,000). Зарегистрировано до 10% проб с пониженным содержанием фосфора в сыворотке крови детей группы наблюдения относительно физиологической нормы, при этом у детей контрольной группы отклонений не выявлено. Частота встречаемости проб крови с пониженным содержанием магния в крови детей группы наблюдения составила 31%, что существенно выше, чем у детей группы сравнения. Среднее значение данного показателя у детей группы наблюдения составило 0,833±0,019ммоль/дм^3(p=0,000). Отклонение показателей ионизированного кальция, фосфора и магния свидетельствуют о развитии негативных эффектов, характеризующих дисбаланс

макроэлементов в костной ткани, следствием чего может являться нарушение строения костной ткани.

При оценке зависимости «уровень биохимических показателей в крови – концентрация алюминия в моче» установлена достоверная прямая зависимость между концентрацией ионизированного кальция и концентрацией алюминия в моче (R^2=0,243, F=36,640, p=0,000)и обратная зависимость между антиоксидантной активностьюплазмы крови и концентрацией алюминия в моче (R^2=0,386, F=84,796, p=0,000), что является свидетельством доказанной причинно-следственной связи «среда-здоровье».

Таким образом, по результатам исследований установлено, что у детей, подвергающихся экспозиции алюминия, выявлено избыточное содержание исследуемого соединения в моче.При сравнительной оценке результатов лабораторных исследований у детей группы наблюдения выявлены отклонения биохимических показателей относительно аналогичных показателей детей группы сравнения, характеризующие нарушениеобмена ионизированного кальция, магния и фосфора в крови, оксидантных и антиокислительных процессов. Доказана связь между показателями негативных эффектов и концентрацией алюминия в моче обследованных детей, что позволило оценить данные показатели в качестве маркеров негативных эффектов.Установленные маркеры могут быть рекомендованы для раннего выявления нарушений здоровья детейв условиях аэрогенного воздействия приоритетных химических факторов в зоне влияния предприятия по производству алюминия, для обоснования необходимого объема профилактических мероприятий.

Библиографический список

1. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой. Методические указания. МУК 4.1.1483-03// Определение вредных веществ в биологических средах: сборник методических указаний. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2003. - С. 128-136.

2. Клиническое руководство по лабораторным тестам/ Под ред. проф. Норберта У. Тица // под ред. В.В. Меньшикова. - М.: ЮНИМЕД - пресс, 2003. - 960 с.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ГЕНОВ ПРИ РОСТЕ *Escherichia coli* НА РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКАХ УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ

Петерс М.А.

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

У бактерий многие стрессы сопровождаются усилением продукции АФК. Вследствие этого, уровень экспрессии антиоксидантных генов может играть важную роль в адаптации бактерий к изменяющимся условиям среды. В данной работе, используя аэробно растущие культуры бактерий *Escherichia coli*, оценивалось влияние источников углерода и энергии на экспрессию антиоксидантных генов *katG*, *katE* и *sodA*, кодирующих, соответственно, каталазы HPI, HPII и Mn-супероксиддисмутазу. При росте на сукцинате, малате, α-кетоглутарате или ацетате, как единственных источниках углерода и энергии, экспрессия гена *katG* была, соответственно, в 1.5, 1.6, 1.7 и 2.3 раза выше, чем при росте на глюкозе. Экспрессия гена *katE*, находящегося под контролем регулятора общего стрессового ответа RpoS, у бактерий, растущих на сукцинате, малате, α-кетоглутарате и ацетате, была выше, чем у растущих на глюкозе, в 1.8, 1.95, 1.5 и 2.1 раза, соответственно. На ацетате экспрессия *sodA* оставалась постоянной и превышала уровень, характерный для роста на глюкозе в 1.2 – 1.8 раза.

БАКТЕРИИ ВОДОЕМОВ ПЕРМСКОГО КРАЯ, ТРАНСФОРМИРУЮЩИЕ ФТАЛЕВЫЕ ЭФИРЫ И АЦИЛ-ЗАМЕЩЕННЫЕ АРОМАТИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

Позюмко Э.Н.[1,2], Луговская Н.П.[1], Казанцева А.А.[1], Максимов А.Ю.[1,2]

[1]*ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», г. Пермь, Россия*
[2]*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия.*

В настоящее время всё большее количество химических продуктов производится с применением биокаталитических технологий. Преимущества биокатализа перед химическим синтезом заключается в мягких условиях проведения реакции, использовании неагрессивных сред, высокой специфичности процесса и, как правило,

полном отсутствии побочных продуктов. Часто ферменты также демонстрируют высокий уровень энантиоселективности, что позволяет использовать их в фармацевтической промышленности для биокаталитического синтеза лекарственных препаратов (Alcántara *et al*., 2000). В частности, показано, что стереоспецифичность реакции деацилирования N-амидов замещенных бензоксазинов, таких как N-7,8-дифтор-2,3-дигидро-3-метил-4H-1,4-бензоксазин, может быть использована для получения хиральных предшественников для синтеза фторхинолонов (Miyadera, Imura, 1999; Чулаков и др., 2015). Одними из перспективных субстратов для синтеза антибактериальных средств являются N-ацетильные и N-бензоильные производные замещенных хинолинов и бензоксазинов.

Из образцов сточных вод производства ОАО Камтэкс, и природных карстовых водоемов селекционированы штаммы актинобактерий и протеобактерий, трансформирующие C- и N-ацильные группы ароматических и гетероароматических соединений. Штаммы микроорганизмов-трансформантов выделяли методами накопительной культуры на минеральной среде N (Максимов и др., 2003) с добавлением селективных субстратов – фталевых эфиров и ацилированных производных хинолина.

Методами полифазной таксономии, а также путем секвенирования генов 16S рРНК на аппаратах MegaBACE1000 и APBiosystems 3500 XL изоляты грамотрицательных бактерий идентифицированы как *Rhodococcus jostii, Rhodococcus erythropolis, Rhodococcus ruber, Methylobacterium radiotolerans, Microbacterium foliorum, Stenotrophomonas maltophilia, Agrobacterium tumefaciens,* а также представители рода *Pseudomonas*, в том числе видов *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida*.

Показано, что большинство выделенных культур способно эффективно трансформировать эфиры (диметил- диэтил-) фталевой, изофталевой и терефталевой кислот, а также ацилированные производные хинолинов. При этом трансформация данных веществ бесклеточными экстрактами шла несколько быстрее, а расход субстратов и накопление продуктов трансформации имел более линейный характер, чем при трансформации целыми клетками. Очевидно, что такой эффект связан с диффузионными ограничениями транспорта субстрата и продукта через мембрану клетки.

Установлено, что селекционированные культуры способны к медленному росту с использованием N-ацилированных производных хинолина и ацилированных хинолинонов в качестве единственных источников углерода. В процессе культивирования в среде

накапливается деацилированный продукт. Для некоторых субстратов использованные аналитические методы в условиях эксперимента не позволили выявить продукты биотрансформации, что свидетельствует в пользу биодеградации исследуемых соединений или адсорбции клетками продуктов биотрансформации.

Известно, что некоторые ациламидазы родококков способны гидролизовать также N-амиды (Лавров и др., 2010). Для проведения трансформации N-ацетилированных и N-бензоилированных производных хинолина и бензоксазина культуры выращивали на средах LB и N в течение 4 суток.

Для трансформации субстратов *in vitro* не растущей культурой реакцию проводили в микропробирках с добавлением калий-натрий фосфатного буфера (10мМ), субстрата (50 мг/мл), ДМСО и живых клеток, в течение 5 суток при 30ºС при 90 об/мин. Общий объем пробы составлял 1 мл. Количество продуктов реакции определяли с помощью методов ВЭЖХ и ГХ-МС.

Показано, что гидролитическая активность в отношении ацетилированных хинолинов и бензоксазинов у ряда бактерий выражается в значительной степени конститутивно: клетки, выращенные на полноценной среде LB при отсутствии субстрата или его структурных аналогов, достаточно активно его трансформировали. Однако при инкубации в присутствии субстрата выход продукта повышался в ряде случаев в 10 раз и более, что свидетельствует об индукции активности.

В ряде случаев отмечена высокая эффективность и энантиоселективность процессов биотрансформации. Так, в экспериментах по трансформации рацемической смеси N-ацетил-7,8-дифтор-2,3-дигидро-3-метил-4Н-1,4-бензоксазина (Ac-DBF) получен препарат S-энантиомера 7,8-дифтор-2,3-дигидро-3-метил-4Н-1,4-бензоксазина с энантиомерным избытком >98%

Таким образом, в результате проведенного скрининга, выделены высокоактивные штаммы, обладающие способностью к деструкции фталевых эфиров и биокаталитической трансформации ароматических эфиров и N-амидов. Полученные культуры биодеструкторов могут быть использованы для решения экологических проблем на производствах, использующих производные фталатов. Установлено, что некоторые изоляты обладают существенной энантиоселективностью в отношении N-амидов производных хинолинов и бензоксазина. Эти штаммы представляются перспективными для биокаталитического энантиоселективного разделения в процессе синтеза антибиотиков фторхинолонового ряда.

Работа выполнена при поддержке Государственного задания Минобрнауки России на выполнение НИР № 6.1194.2014/К

Литература:

Лавров К.В. Новая ациламидаза из *Rhodococcus erythropolis* TA37, способная гидролизовать N-замещенные амиды / К.В. Лавров, И.А. Залунин, Е.К. Котлова и др. // Биохимия. – 2010. – Т.75. – вып.8. – С. 1111-1119.

Максимов А.Ю. Влияние нитрилов и амидов на рост и нитрилгидратазную активность штамма *Rhodococcus* sp. gt1 / А.Ю. Максимов, М.В. Кузнецова, Г.В. Овечкина и др. // Прикл. биохим. микробиол. – 2003. – Т. 39. – № 1. – С. 63-68.

Чулаков Е. Н. Энантиоселективный микробиологический синтез (S)-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2Н-[1,4]бензоксазина / Е. Н. Чулаков, Г.Л. Левит, А.А. Тумашов, Н.П. Луговская и др. // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015 – № 5 – С. 1097-1099.

Alcántara A.-R. Chemoenzymatic preparation of enantiomerically pure S(+)-2-Arylpropionic acids with anti-inflammatory activity / A.-R Alcántara, Sánchez-Montero, J.-M. Jose-Vicente Sinisterra // Marcel Dekker. – 2000. – P. 659-702.

Miyadera A. Enantioselective synthesis of a key intermediate of levofloxacin using microbial resolution / A. Miyadera, A. Imura // Tetrahedron: Asymmetry. – 1999. – V.10. – P. 119–123.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК КОМПОНЕНТ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ *ESCHERICHIA COLI* НА РАЗЛИЧНЫЕ СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Секацкая П.А.[1,2], Ахова А.В.[1], Ткаченко А.Г.[1,2]

[1]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия*

[2]*ФГБОУ ВО “Пермский государственный национальный исследовательский университет”, г. Пермь, Россия*

Окислительный стресс является побочным эффектом перехода организмов к аэробному образу жизни, и бактерии – не исключение. Активные формы кислорода могут вызывать повреждение важных компонентов бактериальной клетки, в связи с чем в процессе эволюции у бактерий выработались механизмы антиоксидантной защиты. В клетках *E. coli* гены антиоксидантной защиты объединены в

два регулона: *soxRS*-регулон, индуцируемый редокс-циклирующими агентами, и *oxyR*-регулон, реагирующий на перекись водорода (Imlay, 2008).

Известно, что некоторые стрессовые воздействия, например действие антибиотиков (Kohanski, 2007) или теплового шока (Gunasekera, 2008) могут вызывать развитие в бактериальных клетках сопутствующего окислительного стресса.

Целью данной работы является изучение развития сопутствующего окислительного стресса в ответ на различные стрессорные воздействия и его вклада в антибактериальный эффект.

Материалы и методы. В работе использовались штаммы *E. coli* N9213 (8452 (*λ:nfo::lacZ)*) и BGF931 (RK4936 (*λ:katG::lacZ*)). В ходе исследования бактерии подвергались воздействию окислительного (добавка перекиси водорода), осмотического (добавка NaCl), кислотного (добавка уксусной кислоты), этанольного стрессов и действию антибиотиков (левофлоксацин, амикацин, цефотаксим). Сила стрессового воздействия варьировала от слабого (субингибиторного), до среднего (сублетального) и сильного (летального) в экспериментах по изучению жизнеспособности бактериальных клеток.

Минимальная подавляющая концентрация стрессоров и тиомочевины определялась методом серийных разведений на 96-луночных планшетах (МУК 4.2.1890-04, 2004).

Жизнеспособность бактерий определяли по количеству колониеобразующих единиц (КОЕ) при высевах на LB-агар.

Уровень экспрессии генов оценивали по активности β-галактозидазы в клетках, несущих слияние промотора исследуемого гена со структурной частью *lacZ*. Активность β-галактозидазы измеряли методом Миллера (Miller, 1992).

Результаты и обсуждение. Изучение уровня экспрессии антиоксидантных генов показало, что на третий час воздействия такие стрессовые факторы, как перекись водорода (специфический индуктор), хлорид натрия, этанол, цефотаксим, левофлоксацин и амикацин вызывают достоверно значимое повышение уровня экспрессии *katG* (*oxyR*-регулон) по сравнению с контролем. В случае добавления уксусной кислоты, напротив, наблюдалось значительное снижение экспрессии представленного гена. Уровень экспрессии гена *katG* в условиях стрессов сопоставим с уровнем экспрессии, индуцированной перекисью водорода, что может свидетельствовать о формировании сопутствующего пероксидного окислительного стресса в клетках при воздействии неспецифических стрессовых факторов.

Для определения экспрессии гена *nfo* (*soxRS*-регулон) были проведены эксперименты в условиях добавки специфического индуктора параквата, а также в условиях осмотического и кислотного стрессов. При среднем и сильном осмотическом стрессе уровень экспрессии статистически значимо повышался по сравнению с контролем; в условиях кислотного стресса наблюдалось повышение генной экспрессии при средней силе стресса. Тем не менее, в условиях неспецифического стресса экспрессия гена возрастала незначительно по сравнению с уровнем повышения при добавлении специфического индуктора.

Для оценки вклада сопутствующего окислительного стресса в гибель клеток под действием специфических стрессоров были проведены эксперименты с тиомочевинной. Поскольку тиомочевина обладает антиоксидантными свойствами, действуя как скевинджер пероксида водорода (Kohanski, 2007), добавка тиомочевины могла бы позволить нейтрализовать сопутствующий пероксидный стресс и тем самым оценить его вклад в гибель бактериальных клеток.

Добавление тиомочевины снижало экспрессию гена *katG*, индуцированную перекисью водорода, прямо пропорционально возрастанию концентрации. Максимальная концентрация тиомочевины (50 мМ) снижала уровень экспрессии гена до контрольного уровня, плотность культуры при этом увеличивалась. О способности тиомочевины повышать жизнеспособность бактериальных клеток в условиях пероксидного окислительного стресса свидетельствуют также результаты определения количества КОЕ. Согласно им добавление тиомочевины в концентрации 50 мМ помогает перевести летальное воздействие в сублетальное, а сублетальное – полностью нейтрализовать.

Таким образом подтвердились антиоксидантные свойства тиомочевины, что позволило нам использовать ее в дальнейшем в неспецифических стрессовых условиях как антиоксидант.

В результате проведения экспериментов были выявлены следующие варианты действия тиомочевины на жизнеспособность бактериальных клеток в различных стрессовых условиях. В условиях осмотического стресса, индуцированного хлоридом натрия, наблюдается защитное действие тиомочевины на бактериальные клетки при слабой силе стресса, что проявляется в увеличении количества КОЕ на 2 час эксперимента. Аналогичное действие проявляется в условиях воздействия цефотаксима на 24 час эксперимента, также при слабой силе стресса. При среднем и сильном

уровне стрессового воздействия не наблюдалось статистически значимого изменения жизнеспособности культуры.

В условиях воздействия уксусной кислоты и левофлоксацина добавка тиомочевины не оказывает значимого действия на жизнеспособность бактериальных клеток.

На 24 час этанольного воздействия, индуцирующего возникновение в клетках теплового стресса, а также на 2 час воздействия амикацина добавление тиомочевины приводит к снижению жизнеспособности бактериальных клеток, что выражается в уменьшении числа КОЕ при средней силе стресса. При слабой и сильной силе воздействия не наблюдается изменения числа КОЕ в результате добавления тиомочевины.

Таким образом, окислительный стресс действительно формируется в бактериальных клетках при большинстве изученных стрессовых условий, о чем говорят данные экспрессии антиоксидантных генов; но при этом формирующийся стресс не вносит существенного вклада в гибель бактерий, так как в присутствии антиоксиданта, снимающего окислительный стресс, выживаемость клеток изменялась незначительно.

Работа поддержана грантом РФФИ проект № 16-34-00095мол_а.

Библиографический список:

1. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Методические указания МУК 4.2,1890-04) // Клин. микробиол. антимикробн. химиотер., 2004. Т. 6. С. 306-359

2. Gunasekera T. S., Csonka L. N., Paliy O. Genome-wide transcriptional responses of *Escherichia coli* K-12 to continuous osmotic and heat stresses. // Journal of Bacteriology. 2008. P. 3712–3720

3. Imlay J.A. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide // Annu. Rev. Biohem. 2008. Vol. 77. N. 1. P. 755-776

4. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B., Lawrence C.A., Collins J.J. A Common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics // Cell. 2007. V. 130, N5. P. 797–810

5. Miller J.H. Experiments in molecular genetics / Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor // N.Y., 1992. 466 p.

СТРУКТУРА АЛЬГОЦЕНОЗОВ ДВУХ МАЛЫХ РЕК Г. ПЕРМИ

Семейкина П.И.

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

Таксономическая структура, определенная видовым разнообразием и соотношением таксонов надвидового ранга, является наиважнейшей характеристикой любых биологических сообществ и имеет огромное значение, в частности, при анализе региональной альгофлоры (Гецен, 1985; Комулайнен, 2004).

Исследование флоры водорослей двух малых рек г. Перми проводили в 2012 - 2014 гг.. Пробы фитопланктона рр. Егошихи и Данилихи отбирали в июне, августе и октябре 2012 г., январе, ноябре 2013 г., марте – июне и августе 2014 г. За указанный период было отобрано 70 проб фитопланктона (34 проб на р. Егошихе, 36 – на р. Данилихе) и 18 проб фитоперифитона (9 проб на р. Егошихе и 9 проб на р. Данилихе). Отбор проб производили по стандартной гидробиологической методике (Методика…, 1975). Пробы фитопланктона и фитоперифитона просматривали на микроскопах Olympus CX 41 и Zeiss Axiostar plus.Таксономическую принадлежность различных групп водорослей устанавливали по определителям и справочникам («Определитель пресноводных водорослей серии СССР», 1951-1986; Krammer, Lange-Bertalot, 1986-1991; Царенко, 1990; Ветрова, 1993; Komarek, Anagnostidis, 1999). Систематика водорослей проведена в соответствии с данными сайта «algaeBASE» (www.algaebase.org).

Альгофлора малых рек (Егошихи и Данилихи) представлена 112 видовыми и внутривидовыми таксонами водорослей из 7 отделов: *Bacillariophyta* – 76, *Cyanophyta/Cyanoprokaryota* – 12, *Chlorophyta* – 10, *Chrysophyta* – 4, *Euglenophyta* – 5, *Conjugatophyta* – 3, *Dinophyta* – 1 (табл. 1).

Таксономический состав водорослей изученных рек

Таксон	класс	порядок	семейство	род	вид	разновидность	до рода
Cyanophyta/ Cyanoprokaryota	1	6	8	11	7	0	5
Chrysophyta	1	1	1	3	2	0	2
Bacillariophyta	3	11	20	31	59	13	4
Dinophyta	1	1	1	1	0	0	1
Euglenophyta	1	1	2	4	5	0	0
Chlorophyta	2	3	6	8	7	0	3

Conjugatophyta	1	2	3	4	1	0	3
Всего	10	45	41	62	81	13	18

Водоросли относились к 61 роду, 40 семействам, 22 порядкам. Основу флористического списка составляли диатомовые водоросли, они составляли 68 % общего видового состава флоры. Вклад синезеленых составил 11 %, зеленых – 9 %, эвгленовых – 4 %, желто-зеленых – 4 %, коньюгат – 3 %, динофитовых водорослей только 1 %. Такое процентное соотношение выявлено в обеих реках.

Наиболее многочисленными и разнообразными в видовом отношении являются диатомовые водоросли (отдел Bacillariophyta), этот отдел насчитывает 59 видов (с учетом таксонов внутривидового ранга – 76). Диатомовые водоросли рек относились к 11 порядкам, 20 семействам и 31 роду. Для флоры водорослей малых рек выделены 6 семейств, состав которых представлен пятью и более таксонами рангом ниже вида. В этот ранжированный список ведущих семейств включены исключительно диатомовые водоросли: Bacillariaceae (15 видов и разновидностей), Naviculaceae (11), Fragilariaceae (10), за ними следуют Gomphonemataceae (7), Surirellaceae (6) и Pinnulariaceae (5). Указанные семейства объединяют 53 таксона видового и внутривидового ранга, что составляет почти половину (47.3 %) от всего состава альгофлоры. Также для альгофлоры выявлено 4 ведущих рода, каждый из которых содержит 5 и более видов и разновидностей. В этом списке также доминируют только диатомеи: *Nitzschia* – 12 видов и разновидностей, *Navicula* – 10, *Gomphonema* – 7 и *Pinnularia* – 5. Из которых наиболее часто встречаются *Fragilaria capucina* Desmazières, *Fragilaria capucina var. mesolepta* (Rabenhorst) Rabenhorst, *Navicula viridula* (Kützing) Ehrenberg, *Surirella minuta* Brébisson, *Nitzschia heufleriana var. elongata* Pantocsek – Unchecked, *Gomphonema parvulum* (Kützing) Kützing, *Pinnularia mesolepta* (Ehrenberg) W.Smith.

Отдел синезеленых водорослей (Cyanophyta), представленный 12 видами из 6 порядков, 8 семейств и 11 родов, занимает второе место по богатству видов. По видовому разнообразию цианобактерии значительно уступают диатомовым и составляют 10.8 % от общего числа флоры водорослей малых рек г. Перми. Синезеленые представлены 8 семействами, из которых наиболее часто встречаются представители семейства *Pseudanabaenaceae* – *Leptolyngbya mucicola* (Lemmermann) Anagnostidis & Komárek и *Planktolyngbya limnetica* (Lemmermann) J.Komárková-Legnerová & G.Cronberg.

Зеленые водоросли (Chlorophyta) насчитывают 3 порядка, 6 семейств и 8 родов (9.0 % от общего видового состава). Немногие представители отдела Chlorophyta достигают массового развития в

альгосообществах, поэтому к массовым можно отнести только один вид – *Chlorococcum* sp., который встречается в 90% проб. Остальные виды встречаются реже.

Эвгленовые водоросли (Euglenophyta) представлены семействами Euglenaceae и Phacaceae, но встречаются в основном только 2 вида – *Euglena hemichromata* Skuja, *Discoplastis spathirhyncha* (Skuja) Triemer.

Низкое видовое расзнообразие в альгофлоре отмечено среди золотистых водорослей (Chrysophyta) и коньюгат (Conjugatophyta), содержащих по 4 вида и составляющих по 3,6 % от общего состава альголоры, а также для динофитовых (отдел Dinophyta) водорослей, представленных 1 видом – *Gymnodinium* sp. и составляющих 1 % от общего числа видов.

Таким образом, при общей характеристике таксономического состава флоры водорослей двух малых рек г. Перми можно отметить, что 6 ведущих семейств альгофлоры приходятся исключительно на диатомовых водорослей и охватывают 47.3 % всего видового состава. При сравнительной оценке относительного участия родов в альгофлоре малых рек выявлены четыре самых крупных в данной флоре рода водорослей: *Nitzschia*, *Navicula*, *Gomphonema* и *Pinnularia*.

Библиографический список:

1) Ветрова З.И. Флора водорослей континентальных водоемов Украины, эвгленофитовые водоросли. Вып. 1, ч. 2. − Киев: Наук. думка, 1993. − 260 с.
2) Гецен М.В. Водоросли в экосистемах Крайнего Севера [Текст]. – Л.: Наука, 1985. – 165 с.
3) Комулайнен С.Ф. Экология фитоперифитона малых рек Восточной Фенноскандии. Петрозаводск: КНЦ РАН, 2004. – 182 с.
4) Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов [Текст]. – М., 1975. – 240 с.
5) Определитель пресноводных водорослей серии СССР, 1951-1986
6) Царенко П.М. Краткий определитель хлороккоковых водорослей Украинской ССР. − Киев: Наук. думка, 1990 − 208 с.
7) www.algaebase.org

РОЛЬ ГЕНОВ *relA* И *spoT* В ПЕРСИСТЕНЦИИ *E. COLI*

Сидоров Р.Ю.[1,2], Ткаченко А.Г.[1,2]

[1]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия;*
[2]*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия.*

Персистенцией бактерий называют явление, при котором изогенные популяции бактерий, в целом чувствительные к антибиотикам, формируют субпопуляцию персисторных клеток, генетически эквивалентную всей популяции, но фенотипически проявляющую лекарственную устойчивость. По окончании курса лечения инфекционного процесса антибиотиками эти клетки способны вновь восстановить первоначальное состояние популяции, что приводит к рецидивам хронических инфекций, таких как туберкулез [1].

В лаборатории адаптации микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН впервые показано, что в процесс персистообразования, наряду с другими факторами, вовлечены полиамины [2]. Полиамины (путресцин, спермидин, кадаверин и спермин) - это мультифункциональные молекулы, которые являются важным фактором клеточного роста, участвующим в широком спектре адаптивных реакций, в том числе регуляции экспрессии генов. Нами высказано предположение о вовлеченности генов, экспрессия которых регулируется полиаминами, в процесс персистообразования.

К полиаминовому модулону относится группа генов, уровень экспрессии которых значительно повышается полиаминами на этапе трансляции. Ранее в лаборатории адаптации микроорганизмов показана вовлеченность некоторых генов полиаминового модулона в образование персисторных клеток *E. coli*, что послужило основанием для продолжения исследований в этом направлении [3]. Исходя из этого, целью данной работы является изучение роли гена полиаминового модулона *spoT* в персистообразовании.

На первом этапе с помощью метода Datsenko & Wanner [4] нами сконструирован мутант *Escherichia coli*, который несет делеции в двух генах: *relA*, кодирующем ppGpp-синтетазу, и *spoT*, продуктом которого является ppGpp-синтетаза/гидролаза, экспрессия которой находится под контролем полиаминов.

Для измерения частоты персистообразования в ходе периодического культивирования родительского штамма *E. coli* и нокаутных штаммов пробы, взятые из культур, обрабатывали антибиотиком в течение 3 часов, после чего отмывали в физрастворе и высевали по 10 µl на плотную питательную среду без антибиотика. Отношение числа выросших колоний стрессированной культуры к таковому у нестрессированной культуры служило показателем частоты персистообразования.

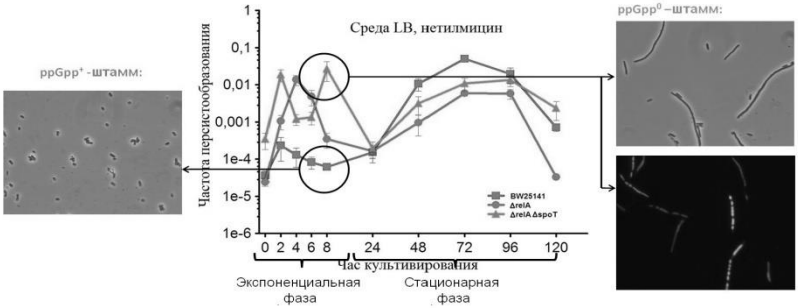


Рис. 1. Частота персистообразования, вызванного нетилмицином, и фенотип клеток в зависимости от фазы культивирования (среда LB).

Результаты измерения на богатой среде выявили снижение частоты персистенции нокаутного штамма в стационарной фазе. Но при этом наблюдалось значительное возрастание частоты персистенции в экспоненциальной фазе у ppGpp^0-штамма по сравнению с контрольной культурой (Рис.1), которое противоречило некоторым данным литературы [5].

Однако при помощи фазово-контрастной микроскопии и live/dead-окрашивания, было выявлено преобладающее количество длинных форм клеток в экспоненциальной фазе роста ppGpp^0-штамма с делециями *relA* и *spoT* (Рис.1). Такие формы образуют отдельные, но не до конца разделившиеся клетки, что характерно для ppGpp^0-фенотипа. Каждая неразделившаяся нить, состоящая из нескольких клеток, формирует только одну колонию на LB агаре, что приводит к мнимому занижению числа живых клеток в культуре, а это в свою очередь вызывает мнимое завышение частоты персистообразования в экспоненциальной фазе роста. При переходе к стационарной фазе удлиненная форма делится на отдельные клетки, каждая из которых образует отдельную колонию на агаре, потому понижение частоты персистенции на порядок действительно имеет место на этом этапе роста.

Результаты экспериментов по измерению частоты персистообразования на среде М9 показали отсутствие удлиненных форм, и снижение скорости персистообразования в делеционных мутантах, обработанных нетилмицином и офлоксацином. Уровень персистообразования в ppGpp^0-культуре в итоге достигает значения контрольной культуры, но с 16-тичасовой задержкой (Рис. 2).

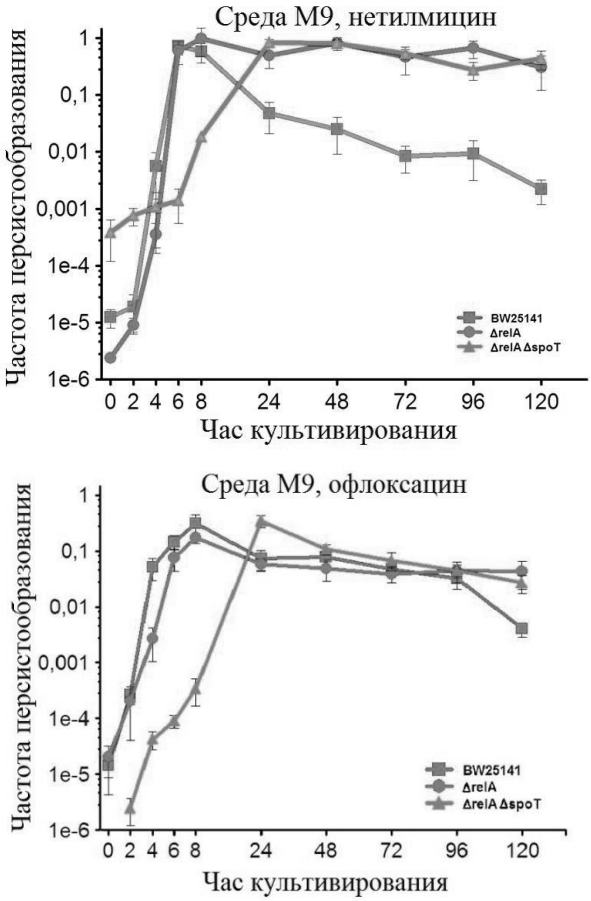


Рис. 2. Частота персистообразования в зависимости от фазы культивирования (среда М9 с добавкой глюкозы и 0.1% дрожжевого экстракта).

Таким образом, частота персистообразования существенно зависит от генов *spoT* и *relA*, ответственных за уровень ppGpp в

клетках *E. coli*. Значительное влияние состава питательной среды на частоту персистообразования может быть связано с функцией ppGpp как регулятора контроля скорости роста, что требует дальнейших исследований.

Работа поддержана РФФИ, грант № 16-44-590279-р_а.

Библиографический список

1. Lewis, K. Persister cells / Lewis, K. // The Annual Review of Microbiology. – 2010. – P. 357–372.
2. Tkachenko, A.G. Putrescine controls the formation of Escherichia coli persister cells tolerant to aminoglycoside netilmicin / Tkachenko, A.G. [и др.] // FEMS. – 2015. – P. 25-33.
3. Тюленева Е.А.Роль генов полиаминового модулона в персистенции Escherichia coli / Тюленева Е.А.[и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т.9(18). – Н.2(1). – С. 673-675.
4. Datsenko, K.A. One-step inactivation of chromosomal genes in Escherichia coli K-12 using PCR products / K.A. Datsenko, B.L. Wanner // PNAS. – 2000. – Vol. 97. – № 12. – P. 6640–6645.
5. Maisonneuve, E. Molecular Mechanisms Underlying Bacterial Persisters / E. Maisonneuve, K. Gerdes // Cell Elsevier. – 2014. – Vol. 157. – P. 539-548.

ПРОИЗВОДНЫЕ ТРИФОСФАТА ДЕЗОКСИУРИДИНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Спицын М.А.[1], Киселева Я.Ю.[2], Кузнецова В.Е.[1], Шершов В.Е.[1], Гусейнов Т.О.[1], Лапа С.А.[1], Тимофеев Э.Н.[1], Арчаков А.И.[2], Лисица А.В.[2], Радько С.П.[2], Заседателев А.С.[1], Чудинов А.В. [1]

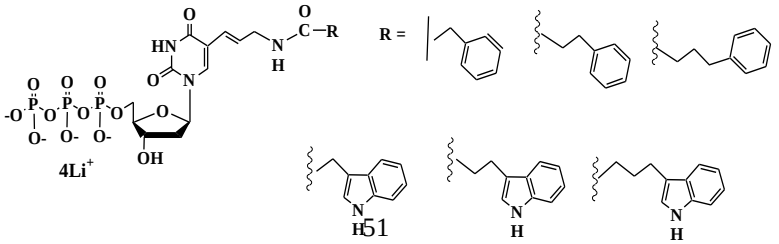
[1]*ФГБУНИнститут молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН).*
[2]*ФГБУ учреждение Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича Российской академии наук (ИБМХ РАН).*

Одной из важных задач современной молекулярной биологии, имеющей и теоретическое значение и много практических приложений, является возможность целенаправленной модификации

нуклеиновых кислот (НК) для придания им новых по сравнению с природными ДНК свойств. Модификация нуклеиновых кислот позволяет существенно расширить спектр их свойств, тем самым увеличивая число потенциальных областей их применения. Функциональное разнообразие модифицированных нуклеиновых кислот обеспечивается введением различных функциональных групп в нуклеиновые основания. Олигонуклеотиды модифицированные введением флуоресцентной метки позволяют визуализировать НК в медицинской диагностике. Модифицированные НК используются в ДНК-аптамерах, содержащих определенные функциональные группы на гетероциклических основаниях и обладают высокой аффинностью и специфичностью связывания с белками. Аптамеры являются функциональной альтернативой моноклональным антителам, и рассматриваются в качестве перспективной основы для создания новых диагностических и терапевтических средств раннего выявления и лечения заболеваний человека.

Технология получения аптамеров, основана на комбинаторных подходах и молекулярной селекции библиотеки модифицированных НК по параметру аффинного связывания с белком-мишенью. Первым необходимым условием проведения эффективной молекулярной селекции является совместимость модифицированных трифосфатов дезоксинуклеозидов (mdNTP) и ДНК-полимеразы. Вторым, аффинная совместимость НК, полученной с использованием mdNTP, и белка-мишени.

Для определения совместимости модифицированных трифосфатов дезоксиуридина и ДНК-полимераз мы исследовали эффективность включения в цепь ДНК производных dNTP, различающихся химическим строением, как функциональной группы, так и линкера, связывающего ее с азотистым основанием. Нами синтезированы шесть новых производных трифосфатов дезоксиуридина, модифицированных фрагментами фенилуксусной, фенилпропионовой, фенилбутановой, индолуксусной, индолпропионовой и индолбутановой кислот, присоединенными по 5-положению алкеновыми линкерами.



Выбор функциональных групп для получения модифицированных трифосфатов дезоксиуридина определялся исходя из гидрофильно-гидрофобных свойств белка-мишени rSMAD4. Все производные были протестированы в качестве субстратов для ДНК-полимераз: Taq, DeepVent и KOD XL в реакции достраивания праймера (primer extension, PEX) в условиях полной замены природного нуклеотида на соответствующий модифицированный нуклеотид. Найдено, что все полученные модифицированные нуклеозидтрифосфаты совместимы с тестированными ДНК-полимеразами, но степень включения в растущую цепь варьируется.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 14.604.21.0111 (идентификатор проекта RFMEFI60414X0111).

АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГЕТЕРОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ БИОПЛЕНОК ТВЕРДЫХ СУБСТРАТОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Суханова Е.В., Белькова Н.Л., Зименс Е.А., Парфенова В.В., Калюжная О.В.

Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Россия

Природные эпилитические биопленки – это физиологически гетерогенные структуры, где преимущественно гетеротрофными микроорганизмами реализуются различные метаболические пути и специфические биологические активности (Bartrons*etal*., 2012). Ранее нами для гетеротрофных бактерий былопоказано наличие антимикробной активностив отношении условно-патогенных микроорганизмов(Зименс и др., 2014).Известно, что многие метаболиты бактериального происхождения являются поликетидами или циклопептидами, которые синтезируются мультиферментными комплексами – поликетидсинтазами (PKS) и нерибосомными пептидсинтазами (NRPS) (Nikoloul*ietal*., 2012).Известно, что представители родов *Bacillus*, *Paenibacillus*и *Serratia*являются продуцентами разнообразных биологических активных веществ, в том числе антибиотиков и токсинов(Wu*etal*., 2011; Fickers, 2012;Lapenda*etal*., 2014; Sánchez*etal*., 2010). Цель настоящего исследования –определениеспособности штаммов, выделенных из биопленок, продуцировать антимикробные соединения с помощью микробиологическихи молекулярно-биологических методов.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования стали 17штаммов гетеротрофных бактерий, изолированных из биопленок твердых субстратов озера Байкал,- представители родов *Paenibacillus, Bacillus, Kocuria, Serratia*и*Pseudomonas* (таблица).

Для оценки антимикробного потенциала определялиспособность штаммов подавлять тест-культурыс помощью метода диффузии в агар(Зименс и др., 2014). В качестве тест-культур использовали:*Escherichiacoli*K12-1; *E.coli*M17-02; *Bacillussubtilis* ВКПМ; *B.subtilis*DSM; *Pseudomonasaeruginosa* ГНИИ ген. им. Тарасевича 190158; *Candida albicans* ATCC 10231; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 и MRSA); *Enterococcus faecium*.

Детекциюгенов PKSпроводилиметодом ПЦР-скрининга (Калюжнаяи др., 2013). Определение структуры генов PKS проводили клонированием целевых ампликонов (Белькова, 2009). Нуклеотидные последовательности определяли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 310 GeneticAnalyzer ABI310A.Всего получено 63 последовательности, которыезарегистрированы в EMBL банке данных и им присвоены следующие номера: LT220194–LT220203, LT555230–LT555282.Для определения гомологиис ближайшими родственникамипроводили сравнительный анализ аминокислотных последовательностейс помощью пакета программBLASTX и BLASTP.

В результате исследованиябыло показано наличие антимикробнойактивностидля 16 из 17 штаммов гетеротрофных бактерий (таблица). Выявлены штаммы с широким спектром действия метаболитов *Kocuria*sp. 3A, *Serratiafonticola*1A, *Bacillus*spp. 9Aи2A, *Paenibacilluspolymyxa*5Aи 12Aи*P.graminis*7A, которые угнетали рост тест-культур различных таксономическим групп (таблица). Следовательно, можно предположить, что эти штаммы способны продуцировать несколько антимикробных соединений.Дополнительно оценивали уровень активности штаммов по диаметру зон лизиса тест-культуры. Так, штаммы*Kocuria*sp. 3A и *S.fonticola*1Aпоказали низкую активность с зонами лизиса до 5 мм. Напротив, *P.polymyxa*5Aи 12A, *Bacillus*sp. 9A,проявили наиболее высокую активность (зоны лизиса до 17 мм) в отношенииусловно-патогенных микроорганизмов, в том числе к метициллин-устойчивому *S. aureus*MRSA.

Определениеантимикробной активности и скрининггенов PKS в штаммах, изолированных из биопленок твердых субстратов озера Байкал

Название штамма	Антимикробнаяактивность	Детекция генаPKS
Paenibacillus polymyxa 5A	Ec1, Ec2, Pa, Bs1, Bs2, Ca, Sa, Ef	+
Paenibacillus polymyxa 12A	Ec1, Ec2, Pa, Bs1, Bs2, Ca, Sa, Ef	+
*Paenibacillusgraminis*7A	Bs1, Bs2, Sa, Ca	+
*Bacillus*sp. 2A	Ec1, Bs1, Bs2, Ca	+
*Bacillus*sp.9A	Bs1, Bs2, Ca, Sa, Ef	+
*Bacillussubtilis*2B	Ec1, Bs2	+
*Serratiafonticola*1A	Ec1, Ec2, Bs1, Bs2, Sa, Ca, Ef	+
Serratiafonticola 10A	Sa, Ca	+
Bacillus sp. 1B	–	–
Bacillus sp. 2C	Pa, Ca	+
Bacillus sp. 3B	Pa, Ca	+
Bacillus sp. 5B	Bs2	–
Bacillus sp. 8A	Bs1, Ca	+
Bacillus sp. 12B	Bs1	–
Pseudomonas sp. 4A	Bs2, Ef	–
Pseudomonas sp. 6A	Ca	–
Kocuria sp. 3A	Bs1, Bs2, Ca, Sa, Ef	+

Примечание: Ec1 – *E.coli*K12-1; Ec2 – *E.coli*M17-02; Bs1 – *B.subtilis* ВКПМ; Bs2 – *B.subtilis*DSM; Pa–*P.aeruginosa* ГНИИ ген. им. Тарасевича 190158; Ca–*C.albicans*ATCC 10231; Sa–*S.aureus* (ATCC 25923 иMRSA); Ef–*E.faecium*.

Скрининг генов PKS показал положительный ПЦР-сигнал для12штаммов из 17 преимущественно грамположительных бактерий:*Bacillus* (6 шт.), *Paenibacillus*(3), *Kocuria*(1) и грамотрицательных–*Serratia* (2) (таблица). Следует отметить, что в геномах штаммов *Pseudomonas*sp. 4Аи6А, а также*Bacillus*sp. 5B,не обнаружены гены PKS, однако отмечено наличие антимикробной активности (таблица). Можно предположить, что это связано с присутствием в их геномах других генов, отвечающих за синтез метаболитов, например, NRPS.Для большинства исследуемых штаммов отмечено наличие как антимикробной активности,так и генаPKS.

Для идентификации генов PKSбыли взяты штаммы как грамположительных *P.graminis*7A,*P.polymyxa*5A и 12A, *Bacillus*sp.9A и2A,*B.subtilis*2B,так и грамотрицательных бактерий *S. fonticola*1A и10A. Все полученные последовательностиотнесены к PKS тип I.Сравнительным анализом показана высокая вариабельность аминокислотных последовательностей, уровень сходства с ближайшими гомологами варьировал от 53 до 100%.Среди гомологичных последовательностей определены гены, участвующие в биосинтезе метаболитов: бациллаена (*BaeN, BaeL, BaeM*), диффицидина (*DfnD, DfnH, DfnJ,DfnG*), сорангицина (*SorA, SorB, SorE, SorH*), эритромицина, каликулина (*CalE, CalB*),ромидепсина(*DepC,DepB*), бриостатина (*BryC, BryB*), дисоразола (*Dsz*A), батумина (*Bat2*), плипастатина.Низкий процентсходства (53–85%)с ближайшимигомологамиполучен для последовательностей генов PKS, идентифицированных для*Serratiafonticola*1A и 10A (20 шт.), что может свидетельствовать о способности этих штаммов синтезировать новые биологически активные метаболиты.Последовательностиполикетидсинтазохарактеризованные из *P.graminis*7A (LT555256, LT555257, LT555260, LT555262)показаливысокую гомологию(97%) к генуб-дезоксиэритронолид B синтазы (DEBS), который синтезирует предшественникэритромицина.Также с высокой гомологией (94-98%) были определеныгены диффицидина (LT555271), бациллаена(LT555272, LT555272, LT555274), идентифицированные для*Bacillus*sp. 9A. Следовательно, штамм *P.graminis*7A может продуцировать эритромицин, а *Bacillus*sp. 9A –диффицидин и бациллаен.

Таким образом,в геномах гетеротрофных бактерий, изолированных из биопленок твердых субстратов озера Байкал, молекулярно-генетическими методами показаноприсутствиегенов поликетидсинтаз,которые участвуют в биосинтезе как известных, так и новых еще не охарактеризованныхантибиотических веществ.Большинство штаммов проявили высокую активность в отношенииразличных условно-патогенных микроорганизмов.Исследуемые нами штаммыспособны продуцировать антимикробные соединения и могут представлять практический интерес в биотехнологических целях.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме № 0345-2014-0004.

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ *PAENIBACILLUS POLYMYXA* 1465 И ИХ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Трегубова К.В., Егоренкова И.В., Красов А.И., Матора Л.Ю., Игнатов В.В.

ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, г. Саратов, Россия

Почвенные ризобактерии *Paenibacillus polymyxa* стимулируют рост и развитие большой группы растений посредством ряда механизмов, среди которых – азотфиксирующая способность, продукция фитогормонов, антибиотиков, защита от фитопатогенов. *P. polymyxa* также продуцируют экзополисахариды (ЭПС) с различными физиологическими и биотехнологическими функциями, играющие существенную роль в формировании растительно-микробных ассоциаций [1]. При ассоциативных взаимоотношениях у растений не образуется каких-либо структур, подобных клубенькам или опухолям, однако, наблюдаются деформации корневых волосков, которые могут служить количественным показателем отзывчивости растения на инокуляцию. Ранее нами было показано вовлечение ЭПС *P. polymyxa* в процессы колонизации корней проростков пшеницы и индукции морфологических изменений корневых волосков [2].

В данной работе на модели «пшеница (*Triticum aestivum* L.) сорта Саратовская 29 – ассоциативные бактерии *P. polymyxa* 1465» было изучено влияние бактерий и их ЭПС на функциональную активность меристематических клеток корней пшеницы и физиолого-морфологические параметры 6-суточных проростков.

Установлено, что ЭПС *P. polymyxa* 1465, полученные при выращивании микроорганизмов на средах с глюкозой или сахарозой, – нерегулярные, гетерогенные по молекулярной массе (7×10^4-10^6 Да) и заряду полисахариды, содержащие маннозу, глюкозу, галактозу, уроновые кислоты и аминосахара, соотношение которых зависит от состава среды культивирования [3]. На первом этапе исследования оценивали ростстимулирующую активность бактерий *P. polymyxa* и их ЭПС по морфологическим показателям проростков пшеницы. Для этого стерилизованные семена проращивали в дистиллированной воде в течение 3-х суток в термостате при 25°С без освещения, затем в течение суток обрабатывали водными растворами ЭПС (0.2 мг/мл) или клетками *P. polymyxa* 1465 ($\times10^8$ кл/мл). В ответ на обработку 3-

суточных проростков пшеницы ЭПС и дальнейшее выращивание в оранжерее в контролируемых условиях (24°, влажность воздуха – 60%, освещенность – 60 мкмоль/м^2·с) в течение 2-х суток, отмечено увеличение длины и массы корней и побегов, а при инокуляции клетками – длины побегов и массы корней и побегов, при этом длина корней изменялась незначительно. Так, обработка ЭПС способствовала увеличению длины корней и побегов в среднем на 20% и 12%, а массы сухого вещества – на 20% и 17%, соответственно. Инокуляция клетками *P. polymyxa* 1465 приводила к росту длины побегов на 12% и массы корней и побегов на 11% и 23%, соответственно.

P. polymyxa имеет сложные специфические взаимоотношения с растительным партнером на молекулярно-генетическом уровне, изменяя профиль экспрессии генов растения. По литературным данным, взаимодействие с ассоциативной микрофлорой приводит к активации деления клеток в корневых меристемах растений [4]. На следующем этапе работы мы оценивали функциональную активность меристематических клеток кончика корня по показателям их митотического индекса (МИ), который может говорить о нормальном протекании митоза, об угнетении процесса деления клеток или, напротив, усилении митотической активности тканей. Так, повышение МИ наблюдали при обработке корней пшеницы ассоциативными бактериями *Azospirillum brasilense* Sp245 (в 2 раза) и препаратами их липополисахаридов (в 1.8 раза) [5].

Для подсчета МИ кончики корней проростков (2-3 мм) фиксировали в смеси уксусной кислоты с этанолом. Материал окрашивали в ацетогематоксилине, после чего кончики корней мацерировали с использованием фермента цитазы. Далее просматривали при 600-кратном увеличении (микроскоп Leica DM 2500) и подсчитывали процент делящихся клеток. В результате инокуляции проростков бактериями *P. polymyxa* 1465 было зафиксировано увеличение МИ клеток корней пшеницы примерно в 1.2, а обработка ЭПС приводила к повышению этого показателя в 1.9. Таким образом, отмечается определенное соответствие изменений митотической активности клеток корней с морфометрическими показателями проростков.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии выраженной ответной реакции со стороны растительного партнера на воздействие ассоциативных ризобактерий *P. polymyxa* и продуцируемых ими гликополимеров, которая проявилась в изменении его физиологических и морфологических параметров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ
1. Liu J., Luo J., Ye H., Sun Y., Lu Z., Zeng X. 2009. Production, characterization and antioxidant activities *in vitro* of exopolysaccharides from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. Carbohydr. Polym. 78: 275–281.
2. Yegorenkova I.V., Tregubova K.V., Ignatov V.V. 2013. *Paenibacillus polymyxa* rhizobacteria and their synthesized exoglycans in interaction with wheat roots: colonization and root hair deformation. Curr. Microbiol. 66: 481–486.
3. Егоренкова И.В., Трегубова К.В., Матора Л.Ю., Бурыгин Г.Л., Игнатов В.В. 2008. Состав и иммунохимическая характеристика экзополисахаридов ризобактерий *Paenibacillus polymyxa* 1465. Микробиология. 77 (5): 623–629.
4. Levanony H., Bashan Y. 1989. Enhancement of cell division in wheat root tips and growth of root elongation zone induced by *Azospirillum brasilense* Cd. Can. J. Bot. 67: 2213–2216.
5. Evseeva N.V., Matora L.Yu., Burygin G.L., Dmitrienko V.V., Shchyogolev S.Yu. 2011. Effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharide on the functional activity of wheat root meristematic cells. Plant Soil. 346: 181–188.

РАЗРАБОТКА МИНИМАЛЬНОГО НАБОРА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ РОДОКОККОВ

Тудвасева М.С.[1], Серебренникова М.К.[2], Куюкина М.С.[1,2], Ившина И.Б.[1,2]

[1]*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», 614990, г. Пермь, Россия*
[2]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, 614013, г. Пермь, Россия*

Актинобактерии рода *Rhodococcus* широко распространены в природе и являются перспективными объектами исследований в области охраны окружающей среды и промышленной биотехнологии. Ежегодное пополнение генофонда Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ; http:/www.iegmcol.ru) свежевыделенными природными изолятами родококков требует экспрессной и надежной видовой идентификации

биотехнологически-перспективных культур. В настоящее время род *Rhodococcus* представлен 37 валидными видами, список которых постоянно пополняется, приводя к увеличению межвидового сходства, что затрудняет идентификацию свежевыделенных изолятов. В связи с этим, поиск надежных таксономических признаков для видовой дифференциации алканотрофных родококков является актуальным.

Цель работы – определить минимальный набор физиолого-биохимических признаков, пригодный для дифференциации близкородственных видов *R. erythropolis* и *R. qingshengii* и объективной идентификации свежевыделенных культур.

В работе использовали коллекционные штаммы видов *R. erythropolis* и *R. qingshengii*, а также свежевыделенные из нефтезагрязненных биотопов изоляты актинобактерий, образующие на плотных средах характерные колонии палево-телесного цвета и предварительно идентифицированные как *Rhodococcus* sp. Ферментативную активность родококков в отношении углеводов и многоатомных спиртов определяли на диагностической среде следующего состава, г/л: KCl – 0,2; MgSO4 – 0,2; $(NH)_4HPO_4$ – 1,0; анализируемое вещество – 10,0; 0,04%-ный водный раствор бромкрезолового пурпурного – 15,0 мл. О ферментации судили по изменению цвета среды от фиолетового до желтого. Ферментативную активность культур в отношении натриевых солей органических кислот изучали на диагностической среде следующего состава, г/л: NaCl – 1,0; $MgSO_4$ – 0,2; $(NH)_4HPO_4$ – 1,0; KH_2PO_4 – 0,5; органическая кислота – 2,0; 0,02%-ный водный раствор бромфенолового красного – 15 мл. О ферментации судили по изменению цвета среды от розового до малинового. Для оценки каталазной активности каплю клеточной суспензии смешивали с 3%-ным раствором перекиси водорода и судили о наличии каталазы по появлению пузырьков газа. Уреазную активность определяли с использованием коммерческого набора производства НИИЭМ им. Пастера. Секвенирование и определение частичной нуклеотидной последовательности (1348–1477 п.н.) генов 16S рРНК выполнено в НПК «Синтол».

По нашим данным, все исследованные культуры родококков проявляли каталазную и уреазную активность. При этом типовые штаммы *R. erythropolis* ИЭГМ 7^T и *R. qingshengii* ИЭГМ 1016^T усваивали натриевую соль янтарной кислоты. Однако клетки *R. qingshengii,* в отличие от *R. erythropolis* не проявляли ферментативной активности в отношении сорбита, *myo*-инозитола и

молочной кислоты. Выявленные различия физиолого-биохимических признаков, подтвержденные для других коллекционных штаммов *R. erythropolis* и *R. qingshengii*, использовались при идентификации свежевыделенных культур.

Свежевыделенные культуры родококков образовывали кислоту из сорбита и усваивали натриевую соль янтарной кислоты. При этом штаммы *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1191 и ИЭГМ 1230 сбраживали *myo*-инозитол и усваивали соль молочной кислоты, что свидетельствовало об их принадлежности к виду *R. erythropolis*. Напротив, штаммы *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1262, ИЭГМ 1268, ИЭГМ 1270 и ИЭГМ 1271 не ассимилировали данные субстраты, что позволило отнести их к виду *R. qingshengii*. Результаты физиолого-биохимического определения видовой принадлежности 5 свежевыделенных штаммов совпадали с данными молекулярно-генетического анализа. В тоже время, штамм *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1191, по данным секвенирования гена 16S рРНК определенный как *R. qingshengii* (процент идентичности нуклеотидных последовательностей – 99,6 %), согласно физиолого-биохимическим признакам принадлежит к виду *R. erythropolis*.

Таким образом, для диагностики близкородственных видов *R. erythropolis* и *R. qingshengii* предлагается использование дифференцирующего теста на ферментативную активность в отношении *myo*-инозитола и молочной кислоты.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (14-14-00643).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ РЕДОКС-СИСТЕМ ГЛУТАТИОНА И ТОРЕДОКСИНА В ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *katF, katE* и *sodA* У БАКТЕРИЙ *Escherichia coli* ПРИ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ КЛЕТОК

Ушаков В.Ю.[1,2], Смирнова Г.В.[2], Октябрьский О.Н.[2]

[1]*ФГБОУ ВО “Пермский государственный национальный исследовательский университет”, г. Пермь, Россия.*
[2]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия*

Культуры микроорганизмов высокой плотности встречаются в естественных местообитаниях, например, в организме хозяина (кишечник) или при росте в виде биопленок на различных

поверхностях. В биотехнологии процесс получения биомассы часто так же связан с высокоурожайными (сверхплотными) культурами клеток. В процессе получения высокоурожайных культур происходит непрерывное изменение параметров среды: накопление продуктов метаболизма, повышение осмотического давления, pH, колебания парциального давления кислорода и т.д. Эти изменения, особенно на последних стадиях культивирования, достигая критических значений, приводят к снижению числа жизнеспособных клеток и влияют на качество конечного продукта.

Накопленные в литературе данные свидетельствуют о важной роли тиоловых редокс-систем глутатиона (GSH) и тиоредоксина в устойчивости бактерий к стрессовым воздействиям. Показана возможность редокс-регуляции клеточной активности с участием указанных выше тиолов. Роль глутатионовой и тиоредоксиновой систем в поддержании нормальной жизнедеятельности бактерий, растущих в высокоурожайных культурах, остается неизученной. Задачей представленной работы являлось изучение роли тиоловых редокс-систем в экспрессии стрессовых генов в лабораторных популяциях клеток с высокой плотностью.

RpoS или σ^s-фактор, экспрессирующийся при многочисленных стрессовых условиях,активирует множество σ^s-подконтрольных генов, таких как *katE, osmY, dps* и др. σ^s представляется как основной регулятор общего ответа клетки на многочисленные стрессы, одним из которых является высокая плотность клеток.

В работе использовались генно-инженерные штаммы *Escherichia coli,* несущие слияние промоторов генов *katF* (кодирует σ^s-фактор), *katE* (кодирует каталазу-гидропероксидазу HPII и является подконтрольным σ^s-субъединице), *sodA* (кодирует супероксиддисмутазу) со структурным геном *β*-галактозидазы, а так же мутацию по одному из компонентов редокс-систем клетки.

Бактерии выращивали аэробно на минимальной среде M9 в течение 17-20 часов, затем ресуспендировали в 100 мл свежей среды исходного состава. По достижении OD_{600}=0,3 клетки ресуспендировали в 50 мл свежей среды до получения необходимой начальной оптической плотности (OD_{600} = 0.3, 0.6, 0.9), после чего отбирали пробы в течение 60 минут.

Показано, что у клеток родительского типа базовый уровень экспрессии гена *katF* был в 2 раза ниже, чем у мутантов по синтезу тиоредоксинредуктазы (*trxB*$^-$) и глутатиона (*gshA*$^-$) (Рис.1).

В клетках *trxB*$^-$ наблюдалось постепенное снижение экспрессии *katF* при искусственном концентрировании клеток, в отличие от клеток родительского типа и мутантов *gshA*$^-$, где не происходило достоверного изменения индукции (Рис.1).

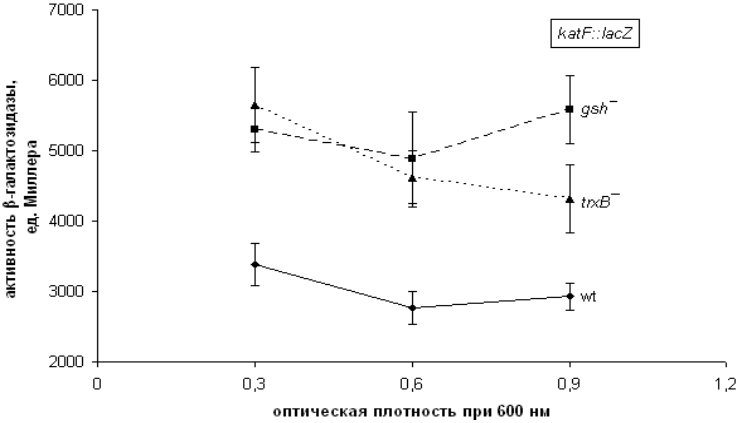


Рис.1. Изменение активности β-галактозидазы (*katF::lacZ*) у штаммов *E. coli* родительского типа, *gshA*$^-$ и *trxB*$^-$ при разной оптической плотности. (Каждая точка представлена как среднее значение активности β-галактозидазы за час роста клеток с указанной начальной плотности).

Отсутствие глутатиона у *gshA*$^-$ мутантов приводило к снижению уровня экспрессии гена *katE* в 1.6 раза по сравнению с клетками wt при росте с начальной OD_{600}=0.3. При повышении оптической плотности культуры в результате концентрирования клеток разница в уровне экспрессии гена *katE* между родительским и мутантным по глутатиону штаммом существенно снижалась, а сам уровень падал в 2.2 раза у клеток дикого типа и в 1.4 раза у *gsh* мутанта при изменении OD_{600} от 0.3 до 0.9 . Индукция гена *katE* у штамма, дефицитного по тиоредоксинтедуктазе, не изменялась в исследуемом диапазоне плотностей (Рис 2).

При повышении плотности культуры в результате искусственного концентрирования клеток наблюдается снижение индукции *sodA::lacZ* у исследуемых штаммов примерно в 2 раза. Независимо от значения оптической плотности уровень экспрессии гена *sodA* был выше у мутантов по глутатиону, чем в родительских клетках (Рис.3).

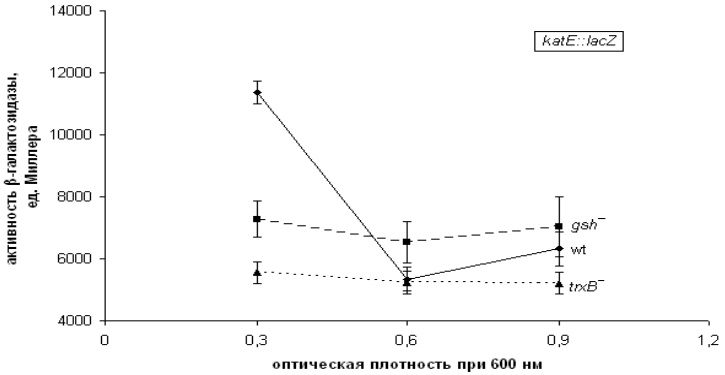


Рис.2. Изменение активности β-галактозидазы (*katE::lacZ*) у штаммов *E. coli* родительского типа, *gshA*$^-$ и *trxB*$^-$ при разной оптической плотности.

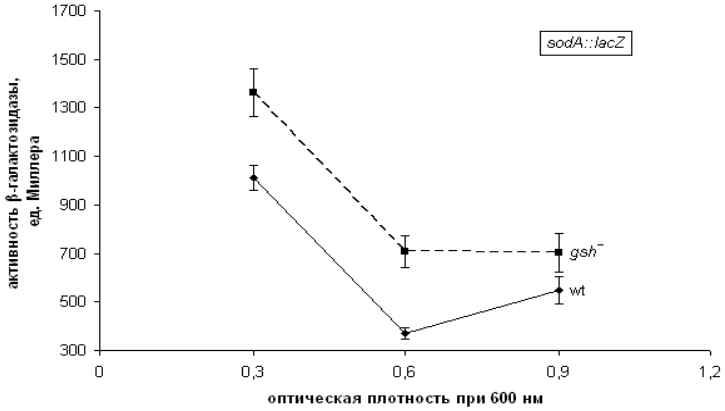


Рис.3. Изменение активности β-галактозидазы (*sodA::lacZ*) у штаммов *E. coli* родительского типа и *gshA*$^-$ при разной оптической плотности.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 16-04-00762 и гранта № 15-4-4-16 Комплексной программы Уро РАН.

ПОЛИАМИНЫ КАК ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ «ПОВЕДЕНЧЕСКИХ» РЕАКЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

Цыганов И.В.[1,2], Нестерова Л.Ю.[1], Ткаченко А.Г.[1,2]

[1]*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*
[2]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г Пермь, Россия*

Туберкулез – смертельно опасное заболевание, вызываемое бактериями *Mycobacteriumtuberculosis*, которое ежегодно уносит тысячи жизней. Как правило, туберкулез требует сложного и длительного лечения, в то время как эффективность антибиотиков неуклонно снижается из-за широкого распространения лекарственной устойчивости среди бактерий. Помимо генетически детерминированной лекарственной устойчивости, для микобактерий характерна устойчивость, которая развивается на физиологическом уровне и приводит к формированию клеток, устойчивых к действию любых неблагоприятных факторов, в том числе к действию антибиотиков.

В настоящее время большое внимание уделяется межклеточной коммуникации и регуляции «поведенческих» реакций микроорганизмов, направленных на их выживание в различных условиях.Биопенкообразование, наряду с некоторыми типами движения, и формирования колоний, возможно только при тесном взаимодействии многих клеток и рассматривается как одно из проявлений «поведенческих» реакций микроорганизмов, способствующих их выживаниюпри неблагоприятных условиях и распространению. Физиология клеток при переходе от планктонной формы существования к биопленочной может активно меняться. При этом формируются субпопуляции клеток, которые являются гораздо более устойчивыми к действию любых внешних факторов, в том числе антибиотиков и компонентов иммунной системы хозяина.

Недавно показано, что на адаптацию микроорганизмов к неблагоприятным условиям окружающей среды, действию различных стрессовых факторов, в том числе антибиотиков, а также способность некоторых бактерий к биопленкообразованию могут оказывать влияние такие метаболиты, как полиамины. Полиамины - алифатические поликатионы имеющие в составе амино- или иминогруппы, присутствующие во всех живых организмах от вирусов до человека. Некоторые ткани и органы человека характеризуются

довольно высоким (миллимолярным) содержанием этих метаболитов: в тканях урогенитального тракта содержатся спермидин и спермин, ткани нижних отделов желудочно-кишечного тракта содержат кадаверин, а в опухолях активно накапливается путресцин. Хотя клетки микобактерий самостоятельно не синтезируютполиамины, они имеют транспортные системы для поглощения из среды этих поликатионов.

Целью данной работы является изучение влияния полиаминов на формирование колоний и биопленкообразованиемикобактерий.

Объектом исследования послужил микроорганизм *Mycobacteriumsmegmatis*, близкий к *M. tuberculosis*, в то же время непатогенный и быстрорастущий и потому широко используемый в качестве модельного объекта при изучении физиологии возбудителя туберкулёзной инфекции.

В работе использовали штамм *M. smegmatis* mc^2155, который сохраняли на чашке Петри с LB агаром, культивировали на среде Middlebrook 7H9 (Difco) с добавлением 0,005% Tween 80 при 37°C , 200 об/мин.

Для оценки влияния полиаминов путресцин, кадаверин, спермидин и спермин (Sigma) добавляли в среду культивирования в концентрациях 0,1; 1; 2; 5 мМ.

Для определения способности к биопленкообразованию культуру *M. smegmatis* выращивали в полистироловых 96-луночных планшетах на среде Middlebrook 7H9 без добавления Tween 80 в течение 48 часов при 37°C без встряхивания. При определении придонногобиопленкообразования удаляли поверхностную биопленку и планктонную культуру, дважды промывали водой, высушивали и окрашивали 0,1% генцианвиолетом. После промывки и подсушивания краситель экстрагировали этанолом и измеряли оптическую плотность (λ=570) на микропланшетномридере. Удельное биопленкообразование (УБО) вычисляли как: УБО=(А-В)/С, где А- ОП570 в опытной лунке; В- ОП570 в контрольной лунке; С- ОП625 культуры клеток. При определении поверхностного биопленкообразования удаляли планктонную культуру, остальные этапы обработки были аналогичными. Расчет проводили по формуле: УБОповерхностное=УБОобщ.-УБОпридонное.

Для определения способности к слайдингу и формированию колоний *M.smegmatis* культивировали на агаризованной среде Сотана (0,3% агара) с добавлением Tween 80 и без него, соответственно.

Для исследования антибиотикорезистентности клетки помещали в фосфатный буфер содержащий антибиотик

левофлоксацинв высокой концентрации (122 мкг/мл, что соответствует 100 МПК) на 24 ч, затем делали высевы и посчитывали количество КОЕ.

На влажной поверхности твердых питательных сред с небольшим содержанием агар-агара, которые подобны поверхностям тканей животных и человека, микобактерии могут образовывать обширные складчатые колонии. Исследования показали, что присутствие в среде полиаминов вызывает уменьшение размеров колоний *M. smegmatis*. В данном случае эффект был концентрационнозависимым и определялся тем, какой полиамин использовали. Кадаверин уменьшал размер колоний более чем на 20% в концентрации 5мМ; путресцин – 2мМ; спермидин - 1мМ; а спермин – 0,1мМ. В то же время максимальный эффект полиаминов, который проявился при действии концентрации 5мМ, составил для кадаверина – 26%, путресцина 31%, спермидина – 46%, спермина – 61%.

Сравнение антибиотикочувствительности клеток из колоний, выросших на полужидких средах, и обычных небольших колоний с твердых сред показало, что клетки с обычных колоний являются более антибиотикочувствительными по отношению к левофлоксацину, чем клетки из больших складчатых колоний с полужидких сред. В то же время клетки из разных участков этих колоний (центр и периферия). Обладали одинаковой антибиотикочувствительностью.

Микобактерии обладают способностью образовывать как поверхностные, так и придонные биопленки. По своей биомассе поверхностные биопленки во много раз превосходят те, что образуются на твердой поверхности. Изучение влияния полиаминов на придонное биопленкообразование *M. smegmatis* показало, что путресцин спермидин и кадаверин оказывали незначительное стимулирующее действие на этот процесс, которое практически не зависело от их концентрации. В то же время спермин демонстрировал значительный концентрационнозависимый эффект. На способность *M. smegmatis*формировать поверхностные биопленки полиамины оказывали противоположный эффект. Набольшее снижение биопленкообразования наблюдалось в присутствии спермина.Разнонаправленный эффект полиаминов на формирование придонных и поверхностных биопленок, по-видимому, обусловлен различной регуляцией этих процессов у микобактерий. Данный вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Таким образом, не смотря на то, что микобактерии не имеют собственных систем синтеза полиаминов, эти соединения способны проникать в клетку и оказывать влияние на процессы их

жизнедеятельности. Полиамины могут влиять на процессы, которые регулируются посредством межклеточной коммуникации, в частности репрессируют образование обширных складчатых колоний на поверхности полужидкогоагара, которые имеют сниженную антибиотикочувствительность, а также влияют на процессы биопленкообразования *M. smegmatis*. Механизмы, посредством которых полиамины могут быть задействованы в этих процессах, являются предметом дальнейшего изучения.

Исследование выполнено в рамках программы УрО РАН (проект № 15-4-4-1).

ЦВЕТОРАСПОЛОЖЕНИЕ *PETASITES SPURIUS* (RETZ.) REICHENB

Шаклеина М.Н.[1], Шабалкина С.В.[1]

[1]*ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», г. Киров, Россия*

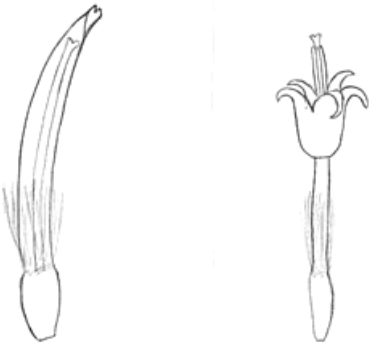
Соцветие обычно определяют как собрание цветоносных побегов, более или менее отграниченное от вегетативных частей растения (Кузнецова и др., 1992). Кроме того при характеристике побеговых систем используется понятие «синфлоресценция» (терм. Troll, 1969) – вся совокупность цветоносных осей годичного побега: «главное соцветие» – совокупность цветков на верхушке главного побега или оси n-го порядка; «паракладии» – боковые оси, развивающиеся на главной оси ниже флоральной единицы и повторяющие её строение. Установить границы соцветия в таком широком его понимании не всегда возможно. (Кузнецова и др., 1992). Поэтому при описании совокупности цветков и побегов с позиций синфлоресценции все чаще используют более широкое понятие – «цветорасположение»: цветковые группировки в составе монокарпических побегов, закономерно соподчиненные и взаимосвязанные в пределах всей побеговой системы растения или, по крайней мере, системы годичного побега (Савиных, Лелекова, 2005).

Согласно этим представлениям мы изучили цветорасположение *Petasites spurius* (Retz.) Reichenb. Для этого в мае–июне 2016 года собирали и анализировали надземные участки цветоносных побегов.

Выявлено, что синфлоресценция *P. spurius* образована корзинками. Обычно *P. spurius* характеризуют (Иллюстрированный

определитель…, 2004; Определитель высших…, 1999 и др.), как двудомное растение. Анализ корзинок показал наличие в них обоеполых (рис. 1б) и женских (рис. 1а) цветков. Число цветков в корзинке колеблется от 31 до 42, среди которых женских от 7 до 12 и обоеполых то 23 до 30. Соотношение женских и обоеполых цветков в корзинке примерно равно 1/3. Обертка корзинки чашевидная, однорядная. Листочки ее листовидные, двуцветные (в центре зеленые с тремя жилками, по краю прозрачные, тонкие), равные, пленчатые, голые, свободные, ланцетовидные. Таким образом, корзинка полигамная, гетерогенная, по форме чашевидная. Распускаются цветки в корзинке от периферии к центру.

У обоеполых цветков (рис. 1б) венчик состоит из пяти сросшихся лепестков образующих трубку. Андроцей срастается длинными тычиночными нитями с трубкой венчика, пыльники вытянутой овальной формы смыкаются вокруг гинецея. Пыльца имеет типичное для сложноцветных строение: шаровидной формы с шипиками. Средний диаметр пыльцевых зерен *P. spurius* 34,3±1,1 мкм, в среднем длина шипиков равна 0,4±0,1 мкм.



а б

Рис. 1. Внешний вид цветков *Petasites spurius*: а –женский, б –мужской

Женские цветки (рис. 1а) напоминают ложноязычковые, лепестки, срастаясь, образуют трубку верхушка, которой косо срезана с двумя зубчиками.

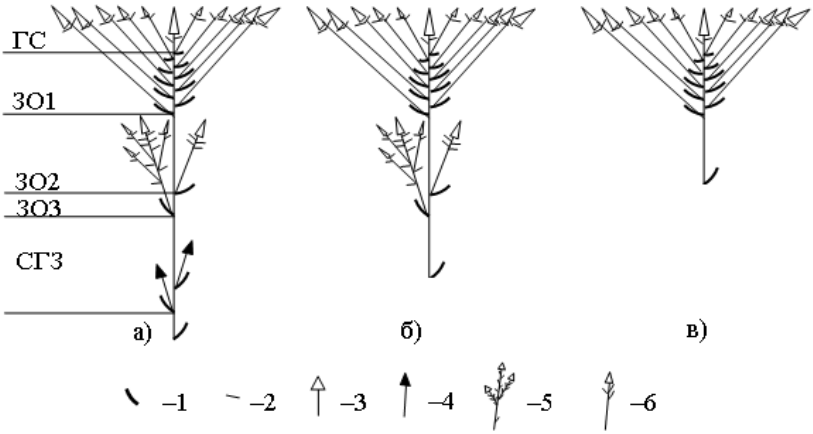


Рис. 2. Поливариантность строения синфлоресценции *Petasites spurius*: 1 – лист верховой формации; 2 – брактея; 3 – главное соцветие; 4 – нереализованное соцветие; 5 – разветвленный паракладий; 6 – неветвящийся паракладий

В строении цветоносной части монокарпических побегов, согласно представлений о структурно-функциональной зональности И. В. Борисовой и Г. А. Поповой (1990), в зависимости от ветвления боковых побегов и степени развития корзинок выделены структурно-функциональные зоны. На верхушке побега расположено главное соцветие из одной корзинки. Ниже располагается несколько метамеров без пазушных соцветий. Это – верхняя зона торможения. Под ней располагается до 15 метамеров с длинными боковыми осями с корзинками на верхушке. Этот участок мы назвали зоной обогащения 1 (ЗО1), поскольку под нею располагается по одной боковой оси из неветвящегося (зона обогащения 2 – ЗО2) и ветвящегося (зона обогащения 3 – ЗО3) до второго порядка паракладия. Далее в базипетальном направлении следуют один – два метамера с заложенными, но не сформированными корзинками – скрытогенеративная зона (СГЗ) по Н. П. Савиных (1998).

Эти структурно-функциональные зоны типичны для синфлоресценция *P. spurius* – метелки из корзинок (рис. 2а). При отсутствовии СГЗ синфлоресценция представлена щитковидной метелкой из корзинок (рис 2б), а ещё и ЗВ2 и ЗВ3 она напоминает щиток из корзинок (рис. 2в).

Выявленная поливариантность цветорасположения *P. spurius* повышает энергию семенного возобновления растения и возможно

может быть использована при выделении онтогенетических групп и изучении популяционной биологии этого растения.

Список использованных источников

1. Определитель высших растений Белоруссии [Текст] / под ред. В. И. Парфенова. – Минск: Дизайн ПРО, 1999. – 472 с.

2. Иллюстрированный определитель растений Средней России [Текст]: Т. 3: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И. А. Губанов, К. В. Киселёва, В. С. Новиков, В. Н. Тихомиров. – М.: Тов-во научных изданий КМК, 2004. – 520 с.

3. Кузнецова, Т. В. Соцветия: морфологическая классификация. [Текст] / Т. В. Кузнецова, Н. И. Пряхина, Г. П. Яковлев. – СПб., 1992. – 125с.

4. Савиных, Н. П., Лелекова, Е. В. Цветорасположение у водных и прибрежно-водных растений [Текст] / Н. П. Савиных, Е. В. Лелекова // Материалы VI Всероссийской школы-конференции по водным макрофитам «Гидроботаника 2005» (пос. Борок, 11—16 октября 2005 г.). – Рыбинск: ОАО «Рыбинский Дом печати», 2006. – С. 97 – 105.

5. Troll, W Die Infloreszenze II Band. I Teil. [Text] / W. Die Troll. – Jena: Fischer Verlag, 1962.

6. Савиных, Н. П. Розеточные травы в роде *Veronica* L. (*Scrophulariaceae*) и их происхождение // Бюлл. МОИП. Отд. биол. 1998. Т. 103. Вып. 3. С. 34-41

7. Борисова, И. В. Попова Г. А. Разнообразие функционально зональной структуры побегов многолетних трав // Бот. Журн. Т. 75, №10. С. 1420 – 1426

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МЕТКИ ДЛЯ АНАЛИЗА ДНК ПО ТЕХНОЛОГИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРОЧИПОВ

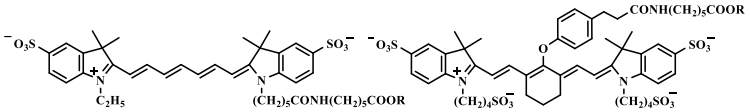
Шершов В.Е., Кузнецова В.Е., Спицын М.А., Гусейнов Т.О., Абрамов И.С., Емельянова М.А., Наседкина Т.В., Лапа С.А. , Заседателев А.С., Чудинов А.В.

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

Важным этапом молекулярно-генетического анализа является процедура флуоресцентного маркирования, обеспечивающая визуализацию полученных результатов. Чувствительность флуоресцентного маркирования и анализ по связыванию с

использованием флуоресцентных меток видимого диапазона ограничена собственной и фоновой флуоресценцией биологического материала. Переход к красителям, флуоресцирующим в ближней ИК области спектра в диапазоне 700-900 нм, в так называемое «диагностическое окно биологической ткани», дает возможность надежнее выделять флуоресценцию применяемого красителя на фоне флуоресцирующих примесей, и увеличить чувствительность анализа.

Нами синтезированы водорастворимые карбоксилсодержащие индотрикарбоцианиновые красители (**1, 3**) и получены их активные производные в виде соответствующих пара-нитрофениловых эфиров (**2, 4**). Красители (**1, 3**) в фосфатно-солевом буферном растворе при pH 7.4 имеют максимумы поглощения 747 нм и 771 нм, максимумы флуоресценции 769 нм и 786 нм, коэффициенты молярной экстинкции 240000 и 280000, квантовые выходы флуоресценции 0.28 и 0.14, соответственно.



1 R=H
2 R=pNp
3 R=H
4 R=pNp

В качестве модели для определения эффективности флуоресцентного маркирования использовали диагностическую тест-систему "ПФ-биочип (РМЖ)". Эта тест-система предназначена для поиска однонуклеотидных полиморфизмов в генах BRCA1/BRCA2 и CHEK2 ассоциирующихся с предрасположенностью к раку молочной железы и яичников человека. Синтетические праймеры с С6-аминолинкером по 5`-концу маркировали метками **(2, 4)** в водно-ацетонитрильном карбонат/бикарбонатном буферном растворе и после очистки использовали в ПЦР. Продукты амплификации анализировали гибридизационным анализом на матрице специфических олигонуклеотидных зондов, иммобилизованных в гидрогелевых ячейках биочипа. Результаты гибридизации регистрировали на флуоресцентном анализаторе при возбуждении светом лазера на длине волны 760 нм и регистрации флуоресценции в диапазоне 813-850нм.

Найдено, что полученные соединения (**2, 4**) пригодны для поставтоматического флуоресцентного маркирования олигонуклеотидов, хемо- и термостабильны в условиях ПЦР, гибридизационного анализа и анализа флуоресцентных сигналов на матрице олигонуклеотидных зондов.

Использование синтезированных ИК-красителей и соответствующего регистрирующего оборудования вместо

стандартного красителя, аналога CY5, позволяет улучшить распознавание совершенных и несовершенных дуплексов на биочипе и, таким образом, повысить надежность и точность анализа в целом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН "Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий" по проекту: "Разработка новых флуоресцентно-меченных дезоксинуклеозидтрифосфатов для технологии биологических микрочипов и других приложений в медицинской диагностике".

TH1 НАПРАВЛЕННОСТЬ Т-КЛЕТОЧНЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ В МОДЕЛИ ИНТЕРЛЕЙКИН-7 ОПОСРЕДОВАННОЙ ГОМЕОСТАТИЧЕСКОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Шмаров В.А.

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Активационные, пролиферационные процессы иммунокомпетентных клеток, секреция ими провоспалительных и антивоспалительных цитокинов определяют силу и направленность иммунного ответа. Любой иммунный ответ развивается в направлении либо Th1-, либо Th2-типа и во многом определяет характер течения заболеваний. Существует ряд социально значимых заболеваний, обусловленных нарушением баланса продукции Th1/Th2-цитокинов.

Субпопуляции Т-клеток различаются по набору синтезируемых ими цитокинов: Th1 (IL-2, IFN-γ), Th2 (IL-4). В отсутствие антигена, численность периферических Т-лимфоцитов поддерживается сложными механизмами гомеостатической пролиферации, обусловленной действием IL-7. Также при отсутствии антигенной нагрузки IL-7 способен к стимуляции Т-лимфоцитов, обеспечивая синтез и секрецию ими цитокинов. Вышеописанные условия воспроизведены в эксперименте в гомеостатической модели культивирования.

Исследовали прямое влияние интерлейкина-7 на функциональную активность Т-лимфоцитов человека, ассоциированную с продукцией цитокинов Т-хелперов 1-го и 2-го типа: IL-2, IFN-γ, IL-4.

Мононуклеарные клетки периферической крови здоровых доноров выделяли посредством градиентного центрифугирования, Т-

лимфоциты ($CD3^+$) выделяли методом позитивной магнитной колоночной сепарации, клетки культивировались в течение 48 часов в присутствии диапазона концентраций IL-7 или без него (контроль). Иммуноферментный анализ Т-клеточных супернатантов показал значимый рост концентрации IL-2 и IFN-γв пробах с добавлением IL-7 по сравнению с контрольной пробой, однако продукция IL-4 в ответ на внесение всего диапазона концентраций IL-7 не наблюдалась.

Результаты иммуноферментного анализа в отношении продукции цитокинов показали способность IL-7 в модели гомеостатической пролиферации усиливать выработку Т-клетками Th1-цитокинов (IL-2 и IFN-γ), но не Th2 (IL-4). Полученные данные указывают на роль IL-7 в качестве индуктора провоспалительногоTh1 цитокинового ответа в модели гомеостатической пролиферации. Таким образом, в физиологических условиях на фоне отсутствия антигенного стимула IL-7 опосредует Th1 направленные Т-клеточные иммунные реакции.

ИНТЕРЛЕЙКИН-7 В СОЗРЕВАНИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Шмаров В.А.

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Исследовали прямое влияние интерлейкина-7 (interleukin-7, IL-7) на созревание выделенных Т-лимфоцитов человека. В работе использовались две модели – гомеостатическая (без активатора) и активационная, где в качестве активатора добавлялись сферы с конъюгированными на их поверхности антителами к CD2/CD3/CD28 антигенам Т-клеток. Гомеостатическая модель отражает IL-7 опосредованное самоподдержание Т-клеточного пула в физиологических условиях, активационная – образование иммунного синапса с передачей сигнала от антигенпрезентирующей клетки на Т-лимфоцит в условиях антигенной нагрузки. Культивирование Т-клеток с активатором приводило к достоверному снижению числа Т-хелперов эффекторной памяти и увеличению числа клеток более зрелых субпопуляций в сравнении с интактной пробой. Добавление IL-7 к клеткам в активационной модели приводило к истощению пула Т-хелперов центральной памяти, менее дифференцированных по

сравнению с Т-хелперами эффекторной памяти, на фоне увеличения числа более зрелых клеток. В гомеостатической модели культивирования IL-7 также снижал число Т-хелперов центральной памяти при увеличении пула терминально дифференцированных Т-клеток. Исходя из того, что аппликация IL-7 приводила к снижению численности менее зрелых клеток при возрастании числа клеток, утративших свой пролиферативный потенциал вследствие терминальной дифференцировки, мы предполагаем роль IL-7 в качестве индуктора созревания в системе покоящихся Т-клеток. Вместе с тем, действие IL-7 на менее дифференцированную субпопуляцию Т-клеток в активационной модели позволяет рассматривать его в качестве акселератора созревания в системе активированных Т-клеток. В обеих используемых моделях созревание Т-лимфоцитов начиналось со стадии клеток центральной памяти.

ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА МАКРОЗООБЕНТОСА В ПРИУСТЬЕВЫХ УЧАСТКАХ РЕКИ КАРГАТ И В ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЕ ОЗЕРА ФАДИХА (БАССЕЙН ОЗ. ЧАНЫ, ЮГ ЗФПАДНОЙ СИБИРИ)

Юрченко С.Н.[1], Растяженко Н.М.[2]

[1]*ФГБОУ ВО Новосибирский государственный педагогический университет, г. Новосибириск, Росиия*
[2]*ФГБУ Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибириск, Росиия*

Одним из важнейших компонентов водных экосистем является сообщество донных беспозвоночных – макрозообентос. В водоемах этот комплекс играет существенную роль в структуре трофических цепей, являясь как кормовой базой для одних животных, так хищниками для других (Визер, 2004), в трансформации вещества и энергии, процессах самоочищения водоемов (Безматерных, 2007), а также большинство представителей зообентоса являются участниками жизненных циклов многих видов трематод (Водяницкая, Юрлова, 2013). Поэтому представляется актуальным количественное и качественное изучение бентоса как важнейшего компонента пресноводных экосистем.

В ходе данной работы, нами была проведена оценка качественного и количественного состава донных беспозвоночных в пресноводных экосистемах бассейна озера Чаны.

Исследование выполнено на Чановском стационаре ИСиЭЖ СО РАН (Здвинский район, Новосибирская область) в начале июля 2015 года. Сбор материала проводили в бассейне озеро Чаны на двух участках: в мелководной зоне устья реки Каргат (N 54º 37,76´; E 78º 13,07´), впадающей в озеро М. Чаны и в прибрежной зоне небольшого проточного озера Фадиха (N 54º 36,44´ ; E 78º 13,26´), расположенного в низовьях реки Чулым.

Материал собран при помощи биоценометра (25*25 см) с 4-х произвольно выбранных площадок удаленных на разное расстояние от уреза воды на глубине 50–70 см. Площадки располагались в зарослях тростника (*Phragmites australis*), пузырчатки средней (*Utricularia intermedia*), на открытой воде регистрировался роголистник полупогруженный (*Ceratophyllum submersum*).

В ходе исследования на р. Каргат нами обнаружено 5 классов беспозвоночных животных: брюхоногие моллюски *(Gastropoda),* насекомые *(Insecta),* пиявки *(Hirudirea)*, малощетинковые черви *(Oligochaeta),* паукообразные *(Araneae)*; на оз. Фадиха 3 класса: паукообразные *(Araneae),* брюхоногие моллюски *(Gastropoda),* насекомые *(Insecta).*

Одной из главных характеристик любого сообщества живых организмов служит его плотность.

Нами установлено, что на обоих участках из всех классов по численности преобладали моллюски и насекомые. При чем на р. Каргат доминировал класс *Gastropoda*, который составил 81,5% (688 экз/м²) от общей численности всего зообентоса на данном участке, а из всех *Gastropoda* 57,5% (396 экз/м²) занимали моллюски *Planorbis planorbis*. На оз. Фадиха преобладал класс *Insecta,* который составил 73% (784 экз/м²) от общей численности зообентоса, из них 62% (487 экз/м²) приходилось на *Chironomidae*.

Нами установлено, что по биомассе, на обоих участках преобладали представители *Gastropoda*, которые составил примерно по 97% от общей биомассы. На оз. Фадиха 95,6% (113,84 г/м²) от биомассы всех гастропод приходилось на отличающихся крупными размерами (длина раковины до 50–60 мм) *Lymnaea stagnalis.* На р. Каргат большая доля – 39,6% (14,4 г/м²) приходилась на *Pl. planorbis* (длина раковины катушки до 20 мм). Преобладание по биомассе планорбид над прудовиком в реке обусловлено огромной численностью катушек. Доминирование по биомассе моллюсков обусловлено их большей индивидуальной массой по сравнению с массой других бентических организмов, в том числе и *Chironomidae*.

Поэтому, несмотря на высокую численность *Chironomidae* на оз. Фадиха, их биомасса не превышает биомассу *Gastropoda*.

В результате, полученные данные показывают, что таксономический состав макрозообентоса р. Каргат был выше (5 классов), чем на оз. Фадиха (3 класса), при том на оз. Фадиха отсутствовали класс *Hirudirea* и класс *Oligochaeta*. По численности на озере Фадиха доминировали *Insecta*, а на реке Каргат *Gastropoda*. Примечательно, что по биомассе на обоих участках преобладали *Gastropoda*.

Таким образом, установлено, что из всех обнаруженных нами бентосных организмов огромный вклад в биомассу в прибрежных экосистем бассейна оз. Чаны привносят моллюски (Gastropoda) – около 70%.

Наши данные сходятся с ранее полученными исследованиями по эстуарной зоне озера Чаны в летний период (Лялина, 2013), по которым основная доля биомассы бентоса приходилась на брюхоногих моллюсков (>60% от общей биомассы), по численности доминировал класс *Insecta* (92%), среди данного класса, как и в наших исследованиях, преобладали *Chironomidae* (около 90% от общей численности).

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 13-04-02075, 15-54-50007.

Список литературы

1. Безматерных Д. М. Зообентос как индикатор экологического состояния водных экосистем Западной Сибири (аналитич. обзор). - Новосибирск, 2007.

2. Визер, Л. С. Динамика кормовой базы озера Чаны / Л.С. Визер, Д.И. Наумкина // Сибирская зоологическая конференция: тез. докл. всерос. конф., посвящ. 60-летию ИСиЭЖ СО РАН. - Новосибирск, 2004.

3. Водяницкая С. Н., Юрлова Н. И. Партениты и церкарии трематод из моллюска *Lymnaea saridalensis* (Gastropoda, Pilmonata) в бассейне озера Чаны (юг Западной Сибири) //Сибирский экологический журнал .-2013.-№1

4. Лялина М. И. Динамика численности и биомассы макрозообентоса в эстуарной зоне озера Чаны в летний период (Западная Сибирь) // Институт систематики и экологии животных СО РАН. -2011.

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОРАСТАНИЕ ФИТОАККУМУЛЯТОРОВ В ПРИСУТСТВИИ *RHODOCOCCUS*-БИОСУРФАКТАНТОВ

А.В. Тищенко[1], Л.В. Костина[2]

[1]*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия.*
[2]*ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия.*

Выявлена прямая зависимость повышения всхожести семян, роста корней и побегов растений-аккумуляторов тяжелых металлов от присутствия *Rhodococcus*-биосурфактантов.

Биосурфактанты, продуцируемые родококками при росте на минеральной среде в присутствии *н*-додекана и *н*-гексадекана и обеспечивающее в концентрации 4 г/л эффективное (до 100%) извлечение тяжелых металлов, могут быть использованы для решения проблем очистки и восстановления техногенно загрязненной почвы методом фиторемедиации. Используемые в настоящем исследовании *Rhodococcus*-биосурфактанты и растения-фитоаккумуляторы рекомендуются для практического использования в разработке комплексной технологии очистки почвы, техногенно загрязненной тяжелыми металлами.

Исследования поддержаны Российским Научным Фондом (14-14-00643).

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН И.Б. Ившина

СОДЕРЖАНИЕ

ДОКЛАДЫ УЧАСТНИКОВ

ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЫ *rmf*И*yqjD*НА ПЕРСИСТООБРАЗОВАНИЕ У *E. COLI*
Аккузина Е.А.,Ткаченко А.Г. 5

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *sulAESCHERICHIACOLI*
Безматерных К.В., Смирнова Г.В. Октябрьский О.Н. 8

ШТАММЫ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПОДЗЕМНЫХ ВОДОЕМОВ ПЕЩЕР ОХОТНИЧЬЯ И БАДЖЕЙСКАЯ
Войцеховская И.Владимировн,Аксёнов-Грибанов Д.В., Протасов Е.С., Скобин Г.А., Тимофеев М.А. 10

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ
Гурина В.В., Нестёркина И. С., Озолина Н.В. 11

СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ Taq ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ В ПЦР С ФЛУОРЕСЦЕНТНО-МЕЧЕННЫМИ ТРИФОСФАТАМИ ДЕЗОКСИУРИДИНА
Гусейнов Т.О., Шершов В.Е., Кузнецова В.Е., Спицын М.А., Заседателева О.А., Василисков В.А., Лапа С.А., Заседателев А.С., Чудинов А.В. 12

ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИЕ ШТАММЫ В СИСТЕМЕ ОЦЕНКИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БАКТЕРИЦИДНЫХ СИСТЕМ ЧЕЛОВЕКА
Каримов И. Ф., Базарова Ю.Ю. 14

БИОКОНВЕРСИЯ *ОРТО*- И *ПАРА*-ЗАМЕЩЕННЫХ ГОМОЛОГОВ ТИОАНИЗОЛА В (*R*)-СУЛЬФОКСИДЫ ГОРДОНИЯМИ
Кылосова Т.И., Елькин А.А. 17

РОЛЬ ГРЕЛИНА В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ TREG И BREG
Орлова Е.Г., Логинова О.А., Ширшев С.В. 20

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* 25, СПОСОБНОГО К ЭНАНТИОСЕКТИВНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ АМИДА ИБУПРОФЕНА
Луговская Н.П., Максимов А.Ю. 24

CA^{2+} АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК CA3 ПОЛЯ СРЕЗОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПОЗДНЕГО (P21-25) НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВОЗБУЖДАЮЩИХ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ
Митаева Я.И. 28

ОЧИСТКА БЕЛКА GLNR ИЗ *LACTOBACILLUS PLANTARUM 8PA3* И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА CHiP-МЕТОДОМ
Неустроева О.А., Каюмов А.Р. 29

ОСОБЕННОСТИ БИОМОРФОЛОГИИ МНОГОЛЕТНЕГО ЗЛАКА*BROMOPSISINERMIS(Leyss.)*С ПОЗИЦИИ МОДУЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ В ДОЛИНЕ СРЕДНЕЙ ЛЕНЫ
Павлова А.А. 30

ОБОСНОВАНИЕ МАРКЕРНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ АЭРОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИОРИТЕТНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕДПРИЯТИЯ ПО ПРОИЗВОДСТВУ АЛЮМИНИЯ
Пескова Е.В. 33

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ГЕНОВ ПРИ РОСТЕ *Escherichia coli* НА РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКАХ УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ
Петерс М.А. 37

БАКТЕРИИ ВОДОЕМОВ ПЕРМСКОГО КРАЯ, ТРАНСФОРМИРУЮЩИЕ ФТАЛЕВЫЕ ЭФИРЫ И АЦИЛ-ЗАМЕЩЕННЫЕ АРОМАТИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ
Позюмко Э.Н, Луговская Н.П., Казанцева А.А., Максимов А.Ю. 37

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК КОМПОНЕНТ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ *ESCHERICHIA COLI* НА РАЗЛИЧНЫЕ СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ
Секацкая П.А., Ахова А.В., Ткаченко А. Г. 40

СТРУКТУРА АЛЬГОЦЕНОЗОВ ДВУХ МАЛЫХ РЕК Г. ПЕРМИ
Семейкина П.И. 44

РОЛЬ ГЕНОВ *relA* И *spoT* В ПЕРСИСТЕНЦИИ *E. COLI*
Сидоров Р.Ю., Ткаченко А.Г. 47

ПРОИЗВОДНЫЕ ТРИФОСФАТА ДЕЗОКСИУРИДИНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
Спицын М.А., Киселева Я.Ю., Кузнецова В.Е., Шершов В.Е., Гусейнов Т.О., Лапа С.А., Тимофеев Э.Н., Арчаков А.И.,. Лисица А.В, Радько С.П., Заседателев А.С., Чудинов А.В. 50

АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГЕТЕРОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ БИОПЛЕНОК ТВЕРДЫХ СУБСТРАТОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ
Суханова Е.В., Белькова Н.Л., Зименс Е.А., Парфенова В.В., Калюжная О.В. 52

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ *PAENIBACILLUS POLYMYXA* 1465 И ИХ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ
Трегубова К.В., Егоренкова И.В., Красов А.И., Матора Л.Ю., Игнатов В.В. 56

РАЗРАБОТКА МИНИМАЛЬНОГО НАБОРА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ РОДОКОККОВ
Тудвасева М.С., Серебренникова М.К., Куюкина М.С., Ившина И.Б. 58

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ РЕДОКС-СИСТЕМ ГЛУТАТИОНА И ТОРЕДОКСИНА В ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *katF, katE* и *sodA* У БАКТЕРИЙ *Escherichia coli* ПРИ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ КЛЕТОК
Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. 60

ПОЛИАМИНЫ КАК ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ «ПОВЕДЕНЧЕСКИХ» РЕАКЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ
Цыганов И.В., Нестерова Л.Ю., Ткаченко А.Г. 64

ЦВЕТОРАСПОЛОЖЕНИЕ *PETASITESSPURIUS*(RETZ.) REICHENB
Шаклеина М.Н., Шабалкина С.В. 67

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МЕТКИ ДЛЯ АНАЛИЗА ДНК ПО ТЕХНОЛОГИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРОЧИПОВ
Шершов В.Е., Кузнецова В.Е., Спицын М.А., Гусейнов Т.О., Абрамов И.С., Емельянова М.А., Наседкина Т.В., Лапа С.А. , Заседателев А.С., Чудинов А.В. 70

TH1 НАПРАВЛЕННОСТЬ Т-КЛЕТОЧНЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ В МОДЕЛИ ИНТЕРЛЕЙКИН-7 ОПОСРЕДОВАННОЙ ГОМЕОСТАТИЧЕСКОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ
Шмаров В.А. 72

ИНТЕРЛЕЙКИН-7 В СОЗРЕВАНИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ
Шмаров В.А. 73

ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА МАКРОЗООБЕНТОСА В ПРИУСТЬЕВЫХ УЧАСТКАХ РЕКИ КАРГАТ И В ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЕ ОЗЕРА ФАДИХА (БАССЕЙН ОЗ. ЧАНЫ, ЮГ ЗФПАДНОЙ СИБИРИ)
Юрченко С.Н, Растяженко Н.М. 74

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОРАСТАНИЕ ФИТОАККУМУЛЯТОРОВ В ПРИСУТСТВИИ *RHODOCOCCUS*-БИОСУРФАКТАНТОВ
Тищенко А.В., Костина Л.В. 77

Научное издание

СИМБИОЗ – РОССИЯ 2016

Материалы IX Всероссийского конгресса
молодых ученых-биологов
(г. Пермь, 4–6 июля 2016 г.)

Издается в авторской редакции
Компьютерная верстка: *А. А. Елькин*

Подписано в печать 30.06.2016. Формат 60×84/16
Усл. печ. л. 4,77. Тираж 100 экз. Заказ ___

Издательский центр
Пермского государственного
Национального исследовательского университета
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано на ризографе
ООО «Учебный центр «Информатика»
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15