

**Материалы секции**  
**БИОЛОГИЯ**



12-23 апреля 2021  
НОВОСИБИРСК



СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ  
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МНСК-2021

БИОЛОГИЯ

Материалы

59-й Международной научной студенческой конференции

12–23 апреля 2021 г.

Новосибирск  
2021

УДК 57  
ББК Е.я431  
Б 63

Председатель секции — член-корр. РАН, д-р биол. наук Д. О. Жарков

Ответственный секретарь секции — канд. хим. наук, доцент Л. М. Халимская

Экспертный совет секции

канд. биол. наук, доцент Д. А. Афонников, д-р биол. наук,  
проф. Н. М. Бажан, канд. биол. наук Н. С. Батурина,  
канд. биол. наук С. В. Герасимова, член-корр. РАН,  
д-р биол. наук Н. Н. Дыгало, канд. биол. наук Е. В. Землянская,  
д-р биол. наук, доцент Т. С. Калинина, канд. биол. наук А. И. Клименко,  
канд. биол. наук С. В. Кулемзин, канд. биол. наук С. А. Лашин,  
канд. биол. наук А. Г. Мензоров,  
канд. биол. наук, доцент П. Н. Меньшанов,  
канд. биол. наук, В. В. Музыка, канд. биол. наук К. Е. Орищенко,  
канд. биол. наук, доцент Л. Б. Пшеницына, канд. биол. наук С. Е. Седых,  
д-р биол. наук, проф. М. Г. Сергеев, канд. биол. наук О. И. Синицина,  
канд. биол. наук Е. В. Сухарева, д-р биол. наук, доцент Д. П. Фурман

**Б 63** Биология : Материалы 59-й Междунар. науч. студ. конф.  
12–23 апреля 2021 г. / Новосибир. гос. ун-т. — Новосибирск : ИПЦ НГУ,  
2021. — 176 с.

ISBN 978-5-4437-1167-6

Данное издание представляет собой публикации тезисов 59-й Международной научной студенческой конференции 2021 года (МНСК-2021) по биологии. Материалы конференции представляют интерес для студентов, аспирантов, преподавателей, научных работников, сотрудников образовательных учреждений.

УДК 57  
ББК Е.я431

ISBN 978-5-4437-1167-6

© СО РАН, 2021  
© Новосибирский государственный  
университет, 2021

SIBIRIAN BRANCH OF RAS  
MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER EDUCATION  
OF THE RUSSIAN FEDERATION  
NOVOSIBIRSK STATE UNIVERSITY

ISSC-2021

BIOLOGY

Proceedings  
of the 59<sup>th</sup> International Students Scientific Conference

April 12–23, 2021

Novosibirsk

2021

УДК 57  
ББК Е.я431  
Б 63

Section head — Dr. Biol., Corr. Membr. RAS D. O. Zharkov

Section responsible secretary — Cand. Chem., Assoc. Prof. L. M. Khalimskaya

Section scientific committee

Cand. Biol., Assoc. Prof. D. A. Afonnikov, Dr. Biol., Prof. N. M. Bazhan,  
Cand. Biol. N. S. Baturina, Cand. Biol. S. V. Gerasimova,  
Dr. Biol., Corr. Membr. RAS N. N. Dygalo, Cand. Biol. E. V. Zemlyanskaya,  
Dr. Biol., Assoc. Prof. T. S. Kalinina, Cand. Biol. A. I. Klimentko,  
Cand. Biol. S. V. Kulemzin, Cand. Biol. S. A. Lashin,  
Cand. Biol. A. G. Menzorov, Cand. Biol., Assoc. Prof. P. N. Menshanov,  
Cand. Biol. V. V. Muzyka, Cand. Biol. K. E. Orishchenko,  
Cand. Biol., Assoc. Prof. L. B. Pshenitsyna, Cand. Biol. S. E. Sedykh,  
Dr. Biol., Prof. M. G. Sergeev, Cand. Biol. O. I. Sinitsyna,  
Cand. Biol. E. V. Sukhareva, Dr. Biol., Assoc. Prof. D. P. Furman

**Б 63** Biology : Proceedings of the 59<sup>th</sup> International Students Scientific Conference. April 12–23, 2021 / Novosibirsk State University. — Novosibirsk : IPC NSU, 2021. — 176 p.

ISBN 978-5-4437-1167-6

This edition represents the publications of the 59th International Scientific Student Conference 2020 (ISSC-2020) theses on biology. These Conference materials can be of interest for students, Ph.D. candidates, professors, scientists, and members of educational institutions.

УДК 57  
ББК Е.я431

ISBN 978-5-4437-1167-6

© SB RAS, 2021  
© Novosibirsk State University, 2021

# БИОИНФОРМАТИКА

УДК 004.032.21; 004.942; 57.087

## **Использование нейронной сети RBF для решения обратной задачи светорассеяния тромбоцитов**

Е. А. Александров

Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Болезни сердечно-сосудистой системы, такие как инсульт и ишемическая болезнь сердца — лидирующие причины смертности в мире. Основной механизм проявления данных патологий — тромбоз, вызванный агрегацией клеток крови. Изучение морфологических и функциональных свойств тромбоцитов позволяет исследовать процесс образования тромбов.

Сканирующая проточная цитометрия является методом исследования биологических дисперсных систем, основанном на поштучном анализе индикатрис светорассеяния частиц. Метод является высокоточным, высокопроизводительным (до сотни измерений в секунду) и статистически достоверным. Решение обратной задачи светорассеяния позволяет производить характеризацию частиц дисперсной фазы.

Одним из методов решения обратных задач является метод нейронных сетей с радиально-базисной функцией (RBF) в качестве активирующей. В литературе показано, что однослойная нейронная сеть RBF, обученная на случайной базе данных из 3000 частиц, позволяет предсказывать параметры сферических гомогенных частиц, радиус и показатель преломления с относительной погрешностью 2 %. Кроме того, нахождение параметров частицы таким методом производится значительно быстрее, чем при использовании стандартных методов глобальной оптимизации, поэтому нейронные сети могут стать перспективными инструментами для решения обратной задачи светорассеяния.

В работе представлена реализация нейронной сети RBF на языке программирования Python, рассматриваются особенности применения нейронных сетей для решения обратной задачи светорассеяния и результаты предсказания параметров тромбоцитов.

Научный руководитель — канд. физ.-мат. наук К. В. Гилев

**Молекулярная эволюция белков,  
содержащих домен фосфолипазы A2, у плоских червей**

М. Е. Бочарникова

Новосибирский государственный университет  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Фосфолипазы — группа ферментов (класс гидролазы), которые катализируют процесс гидролиза фосфолипидов. В зависимости от положения гидролизуемой связи в фосфолипиде различают четыре основных класса фосфолипаз: А, В, С и D. В работе будут рассмотрены фосфолипазы A2, которые отщепляют SN-1 и SN-2 ацильную цепь. Фосфолипазы A2 известны тем, что являются токсинами яда у змей. В числе механизмов воздействия на клетки белков PLA2 — склеивание мембран между собой из-за разности зарядов; ингибирование ацетилхолина (блокирование потенциала действия) и ионных каналов (снижение потенциала действия — зависит от степени токсичности).

В отличие от змеиных и человеческих фосфолипаз, у плоских червей гомологи PLA2 изучены слабо, предполагается, что у паразитических плоских червей они разрушают мембраны хозяина для упрощения получения питательных веществ. По предварительным данным, у гомологов PLA2 плоских червей (свободноживущих и паразитических) варьирует доменный состав.

Паразитические черви представляют угрозу здоровью населения Сибири (высокая заболеваемость описторхозом в Западной Сибири). Заболевание может вызывать осложнения (желчекаменную болезнь или рак). В этой связи фосфолипазы представляют интерес для изучения, поскольку могут участвовать в процессе взаимодействий «паразит — хозяин».

Целью данной работы является изучение особенностей структуры, функций и эволюции белков, содержащих фосфолипазный домен A2 у плоских червей. Проведен анализ доменного состава белков, содержащих домен PLA2 у плоских червей; проведена аннотация функций сопутствующих доменов; построено выравнивание последовательностей доменов PLA и реконструирована филогения последовательностей, которая позволила установить детали эволюции белков семейства фосфолипаз A2 у плоских червей.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. А. Афонников

**Разработка метода реконструкции моделей метаболических путей  
на основе данных геномной аннотации**

М. С. Букаев

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Сегодня активно развиваются биотехнологические подходы в разных областях промышленности: производство пищевых добавок и антибиотиков, добыча полезных ископаемых, очистка от техногенных загрязнений и др. Общим при решении задач биотехнологии является использование микроорганизмов с требуемыми свойствами, которые, как правило, обеспечиваются одной или несколькими метаболическими функциями. Соответственно, выявление микроорганизмов с заданными метаболическими свойствами путем анализа их метаболических путей, а также «оптимизация» этих путей средствами геномной инженерии являются важнейшими задачами биотехнологии. Отметим, что на этапе расчета оптимизации и увеличения продуктивности микроорганизмов активно используются методы математического и компьютерного моделирования.

В работе представлен метод построения математических моделей метаболических путей микроорганизмов по аннотированным данным генетического секвенирования микроорганизмов. Метод реализован на языке программирования Python ([python.org](http://python.org)), с использованием библиотек `biopython` ([biopython.org](http://biopython.org)), `SBtab` ([sbtab.net](http://sbtab.net)), `SBML` ([sbml.org](http://sbml.org)), а также с использованием базы данных KEGG ([kegg.jp](http://kegg.jp)).

Разработанный метод позволяет получить модель потенциально реализующихся метаболических путей микроорганизма, готовую для дальнейшего анализа методами математического моделирования. Данный метод является частью программного конвейера многофакторного исследования микроорганизмов в рамках работы КГЦ ИЦиГ СО РАН.

Научные руководители —

канд. биол. наук С. А. Лашин, канд. биол. наук Ф. В. Казанцев

## **Математическое моделирование активации внешнего сигнального пути программируемой клеточной гибели CD95**

А. С. Вензель

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Программируемая клеточная гибель (ПКГ) играет важную роль в регуляции эмбриогенеза, поддержании гомеостаза тканей взрослого организма, дифференцировке и удалении поврежденных клеток. Нарушение механизмов ПКГ связано с патогенезом и прогрессией ряда онкологических и нейродегенеративных заболеваний. Инициация процесса ПКГ происходит через сборку сложных белковых комплексов, и в зависимости от конечных результатов сборки может активироваться один из сигнальных путей клеточной гибели или выживания, включающих апоптоз, некроптоз, аутофагию или NF- $\kappa$ B. CD95 — один из наиболее хорошо изученных членов семейства рецепторов смерти. Первая стадия инициации апоптоза через рецептор CD95 состоит в формировании сигнального комплекса DISC, инициирующего апоптоз и состоящего из CD95, адапторного белка FADD, прокаспазы-8/10 и клеточного белка-ингибитора c-FLIP. Сборка олигомерных комплексов с участием DD- и DED-доменов играет центральную роль в формировании CD95 DISC. Так, DD-домен CD95 взаимодействует с DD белка-адаптера FADD, а белки проcaspase-8, проcaspase-10 и c-FLIP связываются с комплексом DISC благодаря взаимодействию через их DED, что приводит к активации проcaspase-8 и является основным сигналом запуска пути внешнего апоптоза. Состав и кинетика сборки комплекса DISC во многом определяют баланс между клеточной гибелью и выживанием клетки.

В данной работе была построена кинетическая математическая модель активации сигнального пути CD95, учитывающая стадии сборки DD- и DED-олигомеров комплекса DISC. С использованием построенной математической модели показана ключевая роль белка c-FLIP в активации сигнальных путей клеточной гибели за счет регуляции длины DED-филамента. Построенная математическая модель представляет большой интерес для предсказания ткане-специфичного ответа клетки на стимуляцию рецептора CD95.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. В. А. Иванисенко

**Структура сайтов связывания цитокинин-зависимых транскрипционных факторов семейства В-ARR у *Arabidopsis thaliana* L.**

А. Р. Волянская

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Цитокинины — это класс фитогормонов, необходимых для регуляции роста и развития растений. Эти гормоны широко используются в биоинженерии и сельскохозяйственном производстве. Это обуславливает высокий интерес к изучению биологии цитокинина. Сигнальный путь этого фитогормона приводит к активации транскрипционных факторов (ТФ) семейства В-ARR. У *A.thaliana* из 11 представителей семейства три (ARR1,10,12) являются ключевыми регуляторами ответа на цитокинин. Известно, что нуклеотидная последовательность AGAT является необходимой для связывания ТФ семейства В-ARR с ДНК. Однако остается неизученной роль в связывании этих ТФ структуры флангов, окружающего консервативное ядро AGAT, и повторов сайта связывания с различным расстоянием и ориентацией друг относительно друга. Целью работы является исследование структуры сайтов связывания цитокинин-зависимых транскрипционных факторов семейства В-ARR на основании анализа полногеномных данных *A.thaliana*.

Для достижения этой цели была проведена обработка публично доступных данных ChIP-seq экспериментов по связыванию ТФ ARR1,10,12 с целью определения пиков. Был выполнен *de novo* поиск мотивов, обогащенных в пиках ChIP-seq по связыванию этих ТФ, с помощью инструмента Nomer. Также был осуществлен анализ обогащения повторов выявленных мотивов в пиках ChIP-seq с помощью программы MCOT.

В результате для ТФ ARR1,10,12 была определена структура сайтов связывания, в которой высоко консервативное ядро AGAT окружено менее консервативными флангами. Также впервые показано обогащение инвертированного повтора сайта связывания ТФ ARR1,10 с перекрыванием мотивов в районах связывания этих ТФ. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что взаимное расположение сайтов связывания и нуклеотиды, фланкирующие консервативное ядро AGAT, играют важную роль в функционировании ТФ ARR1,10,12.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Землянская

## **Эволюция и особенности систематики ABC транспортеров**

М. А. Дерюженко

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

ABC-транспортеры — это суперсемейство белков, которые широко представлены у эукариотических и прокариотических организмов. Белки, входящие в это семейство, транспортируют различные органические и неорганические вещества и состоят из трансмембранного и АТФ-связывающего (АТР-binding-cassette, ABC) доменов. В начале 2000-х годов предложена классификация, по которой ABC-транспортеры были разделены на 7 подсемейств от А до G, в зависимости от числа и сочетания трансмембранных и ABC-доменов. В 2020 году было опубликовано масштабное сопоставление структур трансмембранных доменов белков этого суперсемейства и предложена глобальная ревизия систематики с использованием этой информации. В этом случае семейство также разделяется на 7 типов, при этом члены различных подсемейств исходной классификации 2001 года оказываются в одном типе.

*Целью* настоящей работы была реконструкция филогенетических отношений ABC-транспортеров у многоклеточных животных и сопоставление их с имеющимися вариантами структурной классификации этой группы белков.

Для изучения особенностей эволюции этого белкового семейства был проведен поиск гомологов для репрезентативной выборки представителей Metazoa. Реконструированы филогенетические деревья для каждой группы гомологичных белков. Полученные данные позволили выделить эволюционно стабильные особенности структурного разнообразия изучаемых белков и провести уточнение классификации этого семейства у Metazoa.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. В. Дорошков

## **Сравнение алгоритмов для предсказания 3D-организации хроматина в норме и при хромосомных перестройках у млекопитающих**

А. С. Ельсукова, П. С. Белокопытова  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Показано, что мутации, приводящие к нарушению топологической организации генома, часто влияют на экспрессию генов. В свою очередь, изменение экспрессии генов индуцируют болезни, например, глиому, или разного вида отклонения эмбрионального развития. Тем не менее данные о влиянии хромосомных перестроек на топологию затронутых локусов и экспрессию генов противоречивы: в одних случаях нарушение 3D-организации путем хромосомных перестроек приводит к изменению экспрессии, а в других — нет.

На сегодняшний день механизмы, лежащие в основе 3D-организации хроматина, исследуются экспериментально. Тем не менее получить информацию о них возможно и путем моделирования на основе эпигенетических данных. Для этой цели уже разработано большое количество алгоритмов, основанных на разных подходах — от использования корреляции расположения эпигенетических меток и топологических структур до применения биофизических моделей поведения хроматина как биополимера. Такое разнообразие порождает вопрос о сопоставимости и сравнимости получаемых результатов.

Для сравнения эффективности алгоритмов, предсказывающих топологическую организацию хроматина в клетках с хромосомными aberrациями, мы собрали коллекцию данных обогащенного Hi-C и разработали конвейер программ их обработки. Мы также расширили функционал алгоритма 3D Predictor [1], разработанного нашими коллегами, для предсказания топологической организации генома клеток с хромосомными aberrациями.

---

1. Belokopytova P.S. et al. Quantitative prediction of enhancer-promoter interactions // Genome research. 2020. Vol. 30. № 1. P. 72–84.

Научный руководитель — канд. биол. наук В. С. Фишман

**Разработка алгоритма подготовки  
нейрофизиологических и психологических данных для решения задач  
регрессии и анализа временных рядов**

Е. А. Заварзин

Новосибирский государственный университет

Электроэнцефалограмма (ЭЭГ) — метод оценки функционального состояния головного мозга, основанный на анализе поверхностных электрических потенциалов. В настоящее время разрабатывается множество подходов к компьютерному анализу ЭЭГ данных с целью создания систем диагностики риска психических заболеваний. Одним из таких заболеваний является депрессия. Для установления нейрофизиологических коррелятов депрессии исходные ЭЭГ записи должны пройти сложную предобработку, позволяющую очистить исходные сигналы от шума и подготовить их для дальнейшей оценки.

В рамках данной работы был реализован алгоритм подготовки данных для задач регрессии показателя предрасположенности к депрессии и анализа временных рядов. Полученный алгоритм проводит унификацию данных, восстанавливающую пропуски данных методом интерполяции, вводит дополнительные переменные попарной корреляции каналов, а также показателей мощностей каналов в частотных диапазонах. Помимо этого, данные разбиваются на отрезки, наложенные друг на друга, чтобы в дальнейшем можно было использовать динамику показателей в рамках анализа временных рядов.

Полученный алгоритм позволяет сравнивать различные группы испытуемых по характеристикам ЭЭГ и может служить основой для сравнительного анализа в различных экспериментальных условиях. Полученный алгоритм планируется применить для поиска ЭЭГ-коррелятов депрессивного расстройства, а также для изучения показателей работы мозга во времени и поиска паттернов, специфичных для группы испытуемых.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 18-29-13027.*

Научный руководитель — д-р филос. наук, проф. А. Н. Савостьянов

**Идентификация и анализ генов рецепторов LysM  
в геноме «красивого гороха» *Vavilovia formosa***

Д. И. Каретников

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Неспецифический иммунитет (ПТИ) является первым уровнем иммунной защиты растений, который активируется благодаря узнаванию различных молекулярных паттернов микроорганизмов (МAMP) рецепторами опознавания паттерна (PRR). К таким рецепторам относят рецепторы LysM, которые разделяются в зависимости от наличия внутриклеточного киназного домена на две группы: LysM-RLK и LysM-RLP. При узнавании лиганда происходит запуск каскада реакций, приводящего к ответной реакции на внешний раздражитель. Помимо этого некоторые LysM рецепторы семейства *Fabaceae* способны специфически узнавать факторы нодуляции (Nod-factor), синтезируемые бактериями группы *Rhizobium*, и факторы арбускулярной микоризы, благодаря чему образуются взаимовыгодные симбиотические отношения между бобовыми и микроорганизмами.

*Vavilovia formosa*, эндемик Кавказа и Передней Азии, является представителем монотипного рода семейства *Fabaceae*. Произрастает *V. formosa* на мелкощербнистых осыпях и зарастающих моренах не ниже 2000 метров над уровнем моря. Такие условия позволяют предположить, что данный вид обладает генетическими особенностями, сформировавшимися в ходе эволюции.

В настоящем исследовании основной целью является выявление генов, кодирующих LysM рецепторы в геноме *Vavilovia formosa*, и дальнейший их анализ.

Результаты показывают, что в геноме *Vavilovia formosa* имеется 18 генов, кодирующих LysM рецепторы, 16 из которых являются LysM-RLK, а 2 гена — LysM-RLP, что соответствует общему количеству генов-рецепторов в сестринском геноме *Pisum sativum*. На основе гомологии были предположены функции конкретных генов *Vavilovia formosa*. Филогенетический анализ продемонстрировал разделение группы IRLC на трибы бобовых и клеверных. Анализ синтении показал наличие синтенных блоков LysM генов, наследуемых в ходе эволюции как у *Vavilovia formosa*, так и у других представителей группы IRLC.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. А. Афонников

**Компьютерный анализ структуры и состава макромолекулярных комплексов, образуемых доменами смерти**

А. В. Константинова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Нарушение в регуляции сигнальных путей программируемой клеточной гибели, воспаления и врожденного иммунитета ассоциированы с развитием целого ряда заболеваний, включая онкологические, нейродегенеративные и аутоиммунные заболевания. В связи с этим задача исследования тонких молекулярных механизмов регуляции данных сигнальных путей имеет высокую фундаментальную и прикладную значимость. Известно, что большую роль в их активации играют белки суперсемейства доменов смерти.

Домены смерти характеризуются общим типом укладки, состоящим из шести антипараллельных альфа-спиралей, и способностью к образованию олигомерных структур со спиральной симметрией за счет образования специфических взаимодействий «белок — белок». Такие белковые комплексы могут служить платформой для активации каспаз и киназ для последующей активации сигнальных каскадов. Структура и точный состав таких молекулярных комплексов во многом до сих пор не изучены.

В ходе данной работы с использованием методов молекулярного моделирования был разработан протокол и проведены предсказания способности различных доменов смерти образовывать гомо- и гетеротипические взаимодействия «белок — белок». Дополнительно был проведен анализ консервативности предсказанных типов взаимодействий среди высших хордовых организмов. Полученные оценки позволили предсказать структуры олигомеров, которые бы могли осуществлять одновременную регуляцию нескольких сигнальных путей программируемой клеточной гибели и воспаления.

Научный руководитель — Н. В. Иванисенко

## Биоинформатический анализ характеристик элонгации трансляции у бактерий рода *Ralstonia*

А. Е. Коренская

Новосибирский государственный университет

Род *Ralstonia* обладает большим генетическим разнообразием и широким спектром сред обитания. С одной стороны, этот род включает в себя почвенные бактерии, способные вызывать различные внутрибольничные инфекции у пациентов с ослабленным иммунитетом. С другой стороны, к этому роду относится группа видов *R. solanacearum*, поражающая множество сельскохозяйственных растений, включая имбирь, табак, томат и картофель [1].

Эффективность экспрессии генов зависит от множества этапов и факторов, в том числе от этапа элонгации трансляции. В ИЦиГ СО РАН разработан программный комплекс EIoE, позволяющий проводить биоинформатический анализ эффективности элонгации трансляции генов различных микроорганизмов [2].

Анализ геномов бактерий рода *Ralstonia* с применением этого программного комплекса показал, что тип оптимизации элонгации трансляции отличается для различных групп внутри рода: у фитопатогенов на эффективность этапа элонгации трансляции влияет кодонный состав, количество и стабильность вторичных структур в мРНК, а у условно-патогенных бактерий только кодонный состав и количество вторичных структур. Дальнейшая работа заключается в анализе имеющихся данных по видам рода *Ralstonia* и их геномам. Таким образом, применение инструментария EIoE к геномным данным для видов рода *Ralstonia* позволило выявить роль изменения типа оптимизации элонгации трансляции в дивергенции данных групп.

---

1. Zhang Y., Qiu S. Phylogenomic analysis of the genus *Ralstonia* based on 686 single-copy genes // Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol. Springer International Publishing, 2016. Vol. 109. № 1. P. 71–82.

2. Sokolov V. et al. Web application for automatic prediction of gene translation elongation efficiency // J. Integr. Bioinform. 2015. Vol. 12. № 1. P. 256.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. И. Клименко

**Филотранскриптомный анализ генных сетей  
сахарного диабета 2-го типа**

Т. А. Мартюшева

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

В настоящее время исследование сахарного диабета 2-го типа становится все более востребованным, так как число заболевших, по данным Всемирной организации здравоохранения, стремительно увеличивается даже среди детей и подростков, и есть все основания предполагать, что решающую роль в этом играет глобальный рост показателей ожирения и физической инертности.

Филостратиграфический анализ — это анализ макроэволюционных особенностей, основанный на оценке распределения ортологичных генов в геномах организмов из разных таксономических групп [1]. Используя филостратиграфический подход, можно отследить возникновение генов, ответственных за развитие болезней, в ходе эволюции. Филотранскриптомный анализ комбинирует в себе филостратиграфический анализ и анализ экспрессионных данных. С его помощью можно определить так называемый эволюционный возраст транскриптома [2].

Цель данной работы — провести филотранскриптомный анализ генных сетей сахарного диабета 2-го типа.

В работе были проанализированы данные по экспрессии из пяти различных образцов тканей клеток человека, а также данные по экспрессии генов на разных стадиях заболевания. Поиск экспрессионных данных производился в базе данных Geo datasets NCBI.

---

1. Domazet-Lošo T., Brajković J., Tautz D. A phylostratigraphy approach to uncover the genomic history of major adaptations in metazoan lineages // *Trends Genet.* 2007. Vol. 23. № 11. P. 533–539.

2. Domazet-Lošo T., Tautz D. A phylogenetically based transcriptome age index mirrors ontogenetic divergence patterns // *Nature.* 2010. Vol. 468. № 7325. P. 815–819.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. А. Лашин

## **Реконструкция и компьютерный анализ ассоциативной генной сети человека, контролирующей аппетит**

Е. А. Матросова

Новосибирский государственный университет

Ожирение — это мультифакторное заболевание, получившее широкое распространение в наши дни. Однако молекулярно-генетические механизмы предрасположенности к ожирению изучены недостаточно. Известно, что мутации в генах, участвующих в регуляции аппетита, повышают риск развития ожирения. Чтобы получить дополнительную информацию о молекулярно-генетических основах регуляции аппетита и влиянии их на ожирение, мы построили и проанализировали ассоциативную генную сеть человека, контролирующую аппетит.

На основе сформированного нами списка из 120 генов, белковые продукты которых регулируют аппетит, с помощью системы ANDSystem ([www-bionet.sccc.ru/andvisio/](http://www-bionet.sccc.ru/andvisio/)) была построена ассоциативная генная сеть регуляции аппетита человека (сеть А). Затем с помощью программы Cytoscape была визуализирована центральная часть сети А (сеть Б), информация о связях между объектами которой была получена из базы GeneNet, системы ANDSystem и научных публикаций.

С помощью системы ANDSystem и последующей ручной проверки были найдены 54 микроРНК, регулирующие экспрессию белков сети А. Также система ANDSystem позволила найти 2119 терминов, обозначающих заболевания, связанные с генами или белками сети А. Среди них наибольшим количеством связей с генами либо белками сети обладали термины, обозначающие разные виды рака, нарушения набора массы жировой ткани, воспаление и инсулинорезистентность.

В ходе анализа сети Б было выявлено, что количество анорексигенных белков в сети значительно превышает количество орексигенных. Было обнаружено, что микроРНК регулируют экспрессию анорексигенных белков в сети значительно чаще, чем это можно ожидать по случайным причинам. На основе филостратиграфического индекса PAI [1] был оценен эволюционный возраст генов сети. Оказалось, что гены, кодирующие рецепторы клеточной поверхности, имеют значительно больший эволюционный возраст, чем гены, кодирующие лиганды этих рецепторов.

---

I. Mustafin Z. S., Lashin S. A., Matushkin Y. G., Gunbin K. V., Afonnikov D. A. Orthoscape: a cytoscape application for grouping and visualization KEGG based gene networks by taxonomy and homology principles // BMC Bioinformatics. 2017. Vol. 18. № S1. P. 1–9.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Игнатьева

## **Оценка порядка эпистатического эффекта аминокислотных замен в последовательностях белков**

М. М. Минкевич

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Эпистаз — феномен, при котором эффект единичной замены определяется генетическим контекстом. Сходный феномен наблюдается и в процессе эволюции белков: влияние одиночных замен аминокислот на стабильность и функцию белка не является аддитивным.

Одна из математических моделей, описывающих влияние контекста на эффект от замены аминокислоты в белке — модель гиперкуба, в котором вершинами являются последовательности белка, а ребра — одиночными аминокислотными заменами. В [1] для анализа влияния контекста на эффект от замены аминокислоты в белках была предложена программа HypercubeME.

В работе мы использовали программу HypercubeME для оценки порядка эпистатического эффекта замен для гомологичных белков двух семейств: гемоглобинов и миоглобинов.

Поиск последовательностей глобинов проводился программой BLAST в базе данных NCBI. Было выявлено 6 298 последовательностей семейства гемоглобинов и 2 742 миоглобинов. Множественное выравнивание последовательностей выполнено в программе MUSCLE. Филогенетическое дерево реконструировано в программе IQ-TREE. Расчеты проводились на кластере Информационно-вычислительного центра НГУ.

Проведенный анализ позволил оценить возможность использования модели гиперкуба для анализа контекстного эффекта в процессе эволюции реальных белковых последовательностей.

---

1. Esteban et al. HypercubeME: two hundred million combinatorially complete datasets from a single experiment // *Bioinformatics*. 2020. № 36. P. 1960–1962.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. А. Афонников

**Применение метода FSEA для анализа данных  
секвенирования одиночных клеток (Single Cell RNA-seq)**

М. А. Рыбаков

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Секвенирование транскриптома одиночных клеток (single-cell RNA-seq) — это новый и стремительно развивающийся подход, который позволяет количественно оценить экспрессию генов на уровне отдельных клеток. Такой подход позволяет решить проблему «усредненных» данных, которые получаются при анализе тотальной РНК, выделенной из образца, а именно он позволяет определить вклад каждой клетки в экспрессию определенных генов.

Секвенирование РНК одиночных клеток сделало возможным анализ клеточного многообразия в популяции клеток, считавшихся ранее однородными. Такая задача сводится к кластеризации многомерных данных с большим количеством переменных, для которой характерна проблема «проклятия размерности». Она заключается в экспоненциальном росте количества необходимых экспериментальных данных из-за увеличения размерности пространства. Поэтому активной областью исследования является адаптация существующих и разработка новых методов снижения размерности и кластеризации данных single-cell RNA-seq, а также классификации по клеточным типам.

В данной работе мы применили метод анализа фолд-специфичного обогащения (FSEA) для кластеризации и классификации по клеточным типам данных single-cell RNA-seq. В рамках исследования решаются следующие задачи: адаптация метода FSEA для работы с single-cell RNA-seq данными и применение FSEA для снижения размерности, кластеризации и классификации данных.

Научный руководитель — Д. С. Вибе

**Поиск новых потенциальных регуляторов холодового стресса среди MYB-like транскрипционных факторов у *Arabidopsis thaliana* L.**

А. В. Тяпкин

Новосибирский государственный университет

Холод является важным фактором, влияющим на рост и урожайность растений. Долгое время основными регуляторами ответа на холод у модельного растения *Arabidopsis thaliana* считались CBF транскрипционные факторы (ТФ). Но недавно было показано, что CBF1-3 регулируют лишь ~11 % генов, изменяющих свою экспрессию в ответ на холод, причем тройные мутанты *cbf123* погибают при отрицательных температурах, но выживают при +4 °С. Так, поиск ТФ, регулирующих ответ на холод при низких положительных температурах, остается актуальной задачей.

Ранее в ходе проведенного в нашей лаборатории метаанализа данных транскриптомов *A. thaliana*, полученных при холодовом стрессе, были выявлены цис-элементы, значимо обогащенные в промоторах регулируемых холодом генов. Наиболее значимыми оказались цис-элементы, являющиеся сайтами связывания CBF1-3. Также был выявлен цис-элемент ААТАТС, распознанный как сайт связывания MYB-like ТФ [1]. Это семейство включает 66 белков, но только для четырех показана роль в регуляции ответа на холодовый стресс.

Цель данной работы — найти новые регуляторы ответа на низкие положительные температуры у *A. thaliana* среди MYB-like семейства ТФ.

Построена кладограмма для MYB-like семейства ТФ. На основе данных метаанализа транскриптомов *A. thaliana* мы выявили 3 239 генов, дифференциально экспрессирующихся в ответ на холод. Выявлено 22 MYB-like ТФ, районы связывания которых обогащены в промоторах холодочувствительных генов. Показано, что большая часть MYB-like ТФ, изменяющих свою экспрессию в ответ на холод и обогащенных в промоторах холодочувствительных генов, принадлежит к кладе CCA1-like, среди которых мы обнаружили ранее неизученные в регуляции холодового стресса ТФ: RVE6 и KUA1.

---

1. Novikova et al. metaRE R Package for Meta-Analysis of Transcriptome Data to Identify the cis-Regulatory Code behind the Transcriptional Reprogramming. // Genes (Basel). 2020. Vol. 11(6). P. 634.

Научный руководитель — канд. биол. наук В. В. Миронова

## Распределение генов *atp* митохондрий и хлоропластов семенных растений

В. Д. Федотовская

Сибирский федеральный университет, Красноярск

Выявление связей и закономерностей между структурой нуклеотидной последовательности, функцией, кодируемой ей, и таксономией ее носителей — одна из фундаментальных задач биоинформатики.

В настоящей работе под структурой понимается частотный словарь триплетов, определяемый по последовательностям генов. Чтобы построить частотный словарь, поместим рамку считывания длиной  $q = 3$  и будем перемещать ее вдоль этой последовательности, подсчитывая при этом количество копий триплетов  $n_{\omega}$ . Далее рассчитаем частоту каждого из триплетов:

$$f_{\omega} = \frac{n_{\omega}}{M},$$

где  $M$  — количество всех встретившихся триплетов. Частотные словари строились в двух вариантах: с шагом рамки считывания  $t = 1$  и 3.

Указанная выше связь изучалась на примере генов растений, которые находятся и в геноме митохондрий, и в геноме хлоропластов. Существует два семейства таких генов: гены АТФ-синтазы и НАДН-дегидрогеназы. В настоящей работе были изучены гены АТФ-синтазы. Для этого использовались геномы 85 видов растений, для которых депонированы одновременно оба генома органелл. Из геномов с помощью программы CLC Genomics Workbench извлекались гены *atp* (*atp1*, *atp4*, *atp6*, *atp8*, *atp9* из митохондриального и *atpA*, *atpB*, *atpE*, *atpF*, *atpH*, *atpI* из хлоропластного), и по ним строились частотные словари. Далее гены кластеризовались в пространстве частот триплетов методом упругих карт с использованием ПО ViDaExpert. Были изучены три типа кластеризации: для генов митохондрий и хлоропластов по отдельности и вместе.

Исследовались следующие ключевые вопросы: выделяются ли кластеры на упругой карте? И если да, то каким образом состав кластеров связан с принадлежностью точек к органеллам, функции генов и таксономии носителей? Для всех типов кластеризации было обнаружено четкое разделение генов, кодирующих одну и ту же субъединицу АТФ-синтазы, в отдельные кластеры. Таким образом было доказано преобладание функции над таксономией для семейства генов АТФ-синтазы геномов митохондрий и хлоропластов растений.

Научный руководитель — д-р физ.-мат. наук, проф. М. Г. Садовский

## Исследование роли гена *EIL2* в развитии корневых волосков у *Arabidopsis thaliana* L.

Ю. К. Шамина, Е. В. Убогоева

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Корневые волоски (КВ) — выросты эпиблемы корня — важный орган растения, увеличивающий всасывающую поверхность. Ауксин и этилен являются ключевыми гормонами растений, которые конвергентно регулируют развитие и рост КВ [1]. Чувствительный к ауксину ген *EIL2*, кодирующий транскрипционный фактор (ТФ) ответа на этилен, специфически экспрессируется в трихобластах (клетках, формирующих КВ) в корне *A. thaliana*. Однако функция этого гена до сих пор не установлена. Цель работы — изучение роли гена *EIL2* в регуляции роста КВ на основании биоинформатического анализа публично доступных полногеномных данных.

На основании анализа данных DAP-seq по связыванию 568 ТФ в геноме *A. thaliana* в 5'-регуляторной области гена *EIL2* ([-1500; +1] относительно старта транскрипции) был обнаружен район связывания ТФ *GTL1*, который ингибирует рост КВ в атрихобластах (клетках, не формирующих КВ), подавляя экспрессию гена *RSL4* — одного из ключевых активаторов роста КВ. Используя ранее опубликованные данные секвенирования транскриптомов одиночных клеток кончика корня, мы сравнили уровни экспрессии генов *EIL2*, *RSL4*, *GTL1* в трихобластах на разных стадиях развития КВ. Гены *EIL2* и *RSL4* имеют сходную динамику экспрессии, а ген *GTL1* — обратный профиль экспрессии. С использованием позиционно-весовой матрицы для сайта связывания *GTL1* были распознаны шесть мотивов в 5'-регуляторной области *EIL2*, один из которых пересекался с пиками ChIP-on-chip и DAP-seq для *GTL1*.

Полученные результаты позволяют предположить, что ген *EIL2* может быть вовлечен в процессы развития КВ, при этом регулярный контур, включающий в себя гены *GTL1* и *EIL2*, может связывать сигнальные пути ауксина и этилена.

---

1. Zemlyanskaya et al. Deciphering Auxin-Ethylene Crosstalk at a Systems Level // International Journal of Molecular Sciences. 2018.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Землянская

**The meta-analysis of genetic variants  
of SARS-CoV-2 from the EpiCoV database**

A. I. Chungalidi <sup>1</sup>, A. A. Kapitonova <sup>2</sup>, E. E. Petrenko <sup>3</sup>, F. M. Polyakov <sup>4</sup>,  
V. A. Dikaya <sup>1</sup>, S. D. Ochkalova <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ITMO University, Saint Petersburg

<sup>2</sup> Moscow State University

<sup>3</sup> Saint Petersburg State University

<sup>4</sup> Higher School of Economics

2020 became a year of COVID-19 pandemic, caused by a novel coronavirus SARS-CoV-2. Over this time its genome has undergone numerous changes and accumulated various mutations. Tracking mutations is necessary since some variants allow viruses to spread easier or cause more severe diseases. Sequencing data can be used to monitor new mutations and estimate the mutation rate of the virus.

455,149 SARS-CoV-2 assemblies originating from human hosts with the associated metadata were retrieved from the EpiCoV database. We used Minimap2 to align every genome on reference (NC\_045512.2) one by one and Picard to merge VCF files. All singletons (variants that were observed only once) were removed. Then we used SnpEff to annotate 40,816 obtained mutations. Data analysis and visualization were performed using our own scripts on Python3. Sequence comparison was done at the nucleotide level.

We revealed the predominance of the GR clade in Russia (although the pandemic started from other clades). This may be due to the fact that the virus did not get to Russia immediately and was brought from Europe. A similar distribution pattern is typical of Moscow and St. Petersburg. Moreover, we have found two mutations of the Brazilian strain (B.1.1.248): C11824T (nsp6), G23012A (Spike, E484K), and one mutation of the British strain (B.1.1.7): C23604A (Spike, P681H) in Russia. These strains have greater transmissibility and lower binding affinity for antibodies, which can reduce the efficiency of vaccines. Finally, we noticed that the largest number of unique mutations was found in the UK and the USA (9404 and 6989), but the overall number of assemblies should also be taken into account (195088 and 90456, respectively). While China, which has been isolated since the beginning of the pandemic, possesses only 4 unique mutations (913 assemblies).

The results of our study can be used to better understand the coronavirus spreading and the necessary measures to counter it.

Scientific supervisor — PhD A. S. Komissarov (ITMO University)

# ЭКОЛОГИЯ

УДК 504.054

## **Снежный покров как индикатор загрязнения атмосферы предприятиями теплоэнергетики**

С. Ц. Балданова, С. Б. Норбоева  
Восточно-Сибирский государственный университет  
технологий и управления, Улан-Удэ

На протяжении последних лет г. Улан-Удэ, расположенный в границах Байкальской природной территории, входит в приоритетный список городов с наибольшим уровнем загрязнения атмосферного воздуха. По данным мониторинга, среднегодовая концентрация бенз(а)пирена в 2020 г. составила до 10 ПДК, по пыли (взвешенным веществам), оксидам азота, оксиду углерода, диоксиду серы — более 1 ПДК. В Улан-Удэ, где проживает около 44 % населения Республики Бурятия, заболеваемость населения болезнями органов дыхания в 1,3 раза превышает среднереспубликанские показатели.

Основными источниками выбросов вредных веществ в атмосферный воздух города являются предприятия теплоэнергетики, частный сектор, автотранспорт. Например, Улан-Удэнский энергетический комплекс на своем балансе имеет 38 котельных, к наиболее крупным из которых относятся: Юго-Западная котельная, обеспечивающая теплом и горячей водой потребителей 100 кварталов, пос. Медведчиково, пос. Силикатный, котельная пос. Аэропорт и котельная пос. Загорск.

Для оценки загрязнения атмосферы в зоне влияния данных котельных были проведены исследования снежного покрова. Отбор проб снежного покрова проводился в конце периода снегонакопления. Для исследования были взяты по пять проб вблизи каждой котельной: четыре пробы — по сторонам света на расстояниях 100 м, пятая — на границе ближайшей жилой застройки. В качестве фоновой пробы выступила проба, отобранная в пригороде г. Улан-Удэ, где отсутствуют антропогенные источники загрязнения.

В отфильтрованной талой воде определялось содержание катионов ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $NH_4^+$ ), анионов ( $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $F^-$ ,  $PO_4^{3-}$ ) методом капиллярного электрофореза. Также расчетным методом была определена пылевая нагрузка по содержанию пыли в твердом осадке снега. По результатам практически во всех точках вблизи котельных, а также в жилой зоне было выявлено превышение концентраций катионов и анионов по сравнению с фоновой пробой.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. О. Н. Чудинова

***Dryas sumneviczii* (Serg.) в кальцефитных сообществах  
Мало-Амалатской впадины (Северное Забайкалье)**

А. А. Баранова, Е. А. Козина

Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова, Улан-Удэ

*Dryas sumneviczii* (Serg.) — северо-азиатский тундрово-высокогорный вечнозеленый стелющийся кустарничек. Пластинки листьев овальные, кожистые, сверху морщинистые от вдавленных жилок, 1–2 см длиной, 0,3–1 см шириной, по краям городчато-зубчатые, снизу войлочные, сверху войлочные или голые. От близкого вида *Dryas oxodonta* (Juz.) отличается завернутым книзу краем и более узкими пластинками листьев. Цветки 1,5–2 см диаметром, одиночные, белые, широко раскрытые с удлинённой цветоножкой. Плоды-орешки имеют длинные перистые летучки. Впервые этот вид был собран и описан Л. П. Сергиевской в 1957 г. на доломитовых выходах г. Белая в окрестностях с. Багдарин (Баунтовский район Республики Бурятия).

Фитоценозы с доминированием *D. sumneviczii* представляют собой уникальный компонент криофитной растительности, или «тундростепи», до сих пор слабо исследованные. Необходимо учитывать в таких сообществах биогеоценозические и функциональные особенности, диапазон экологической толерантности и взаимодействие с другими типами растительности в непосредственной близости от фрагментарных выходов известняков-доломитов.

Нами проанализированы данные геоботанических описаний 13 фитоценозов в окрестностях г. Ороченка (в 2 км от с. Багдарин), г. Белая (урочище Багдахали), г. Белая (с. Багдарин). Дриада отмечена нами на высотах 1169–1300 м над уровнем моря. Проективное покрытие в сообществах более высокое на восточных и южных экспозициях склонов (угол наклона от 5–30°). Наблюдается произрастание в небольших понижениях и эрозийных ложбинах склонов с высокой степенью наличия щебня и дресвы. Именно на таких участках *D. sumneviczii* является эдификатором. Характерными компонентами «тундростепей» являются граминоиды (*Carex rupestris* All., *Kobresia filifolia* (Turcz.) С. В. Clarke, *Festuca hubsugulica* Krivot.), вступающие в конкуренцию с дриадой.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. Е. М. Пыжикова

**Видовой и количественный состав герпетобионтов  
вдоль склона катены (Челябинская область)**

А. А. Бердникова

Новосибирский государственный университет

Большая плотность населения и длительный период активной жизни герпетобионтов — животных, обитающих среди растительных остатков на поверхности почвы или в толще подстилки, — наряду с чуткостью реагирования на изменение окружающих условий позволяют характеризовать определенный видовой состав для каждого биотопа, а также использовать эти организмы в качестве индикатора состояния биоценозов. *Цель работы* заключалась в оценке таксономического разнообразия и состава жизненных форм беспозвоночных, в частности герпетобионтов, в сериях биогеоценозов, связанных общим стоком.

Чтобы определить характер биотопического распределения членистоногих вдоль склона катены, было выбрано пять участков с ярко выраженными отличиями растительного состава и степенью увлажнения почвы (перечислены в порядке увеличения влажности): луговое поле с дернистой почвой, первая полоса камыша (на границе луга и пляжа), вторая полоса камыша (пляж, почва песчаная), низкий травостой на пляже, песчаная полоса с минимальным количеством растительности. Учеты проводились с использованием ловушек Барбера, выставленных во всех пяти точках «конвертом»: по углам квадрата со стороной 1 м и одной ловушкой в центре. Общее количество рабочих ловушко-суток составило 244. За это время было собрано 302 шт. сухого материала и 106 шт. влажного.

*В результате* исследования было выявлено три основных отряда беспозвоночных животных: пауки (*Aranei*), жуки (*Coleoptera*), перепончатокрылые (*Hymenoptera*). Лидерами по численному обилию являются насекомые, на них приходится 71 % пойманных особей. В самых сухих участках преобладает семейство муравьев (*Formicidae*), во влажных — жужелиц (*Carabidae*). Муравьи представлены одним видом (*Myrmica ruginodis*). Среди жужелиц выявлено 13 видов, самыми массовыми являются *Calathus melanocephalus*, *Pterostichus niger*, *Omophron limbaticum*, а также представители родов *Bembideon*, *Agonum*.

При движении по склону катены от верхней к нижней точке уменьшается как количественный состав, так и видовое разнообразие.

Научный руководитель — В. В. Молодцов

## Диатомовые водоросли водотоков Центрально-Лесного государственного природного биосферного заповедника

С. А. Берестень

Санкт-Петербургский государственный университет

Отбор четырех проб для исследования альгофлоры диатомовых водорослей Центрально-Лесного государственного природного биосферного заповедника проводили в августе 2019 г. Очистку материала от органического вещества проводили методом кипячения в перекиси водорода. Идентификацию диатомовых водорослей проводили с использованием микроскопа Leica DM2500, оснащенного камерой, и 100-кратного иммерсионного планохроматического объектива и с контрастированием по методу ДИК.

В ходе работы было обнаружено и идентифицировано 88 таксонов диатомовых водорослей. Выявленные представители принадлежат к одному отделу, трем классам, 10 порядкам, 20 семействам, 29 родам. В целом наибольшим видовым богатством обладает класс Bacillariophyceae (97,7 % от общего числа видов), порядок Naviculales (51,1 %), семейство Naviculaceae (21,6 %), род *Gomphonema* (15,9 %).

Для всех проб лидирующей группой является класс Bacillariophyceae с порядком Naviculales. В пробах из р. Межа, ручья в смешанном лесу и р. Тюзьма превалирует семейство Naviculaceae и род *Navicula*, в пробе из лесного ручья лидирует семейство Stauroneidaceae и род *Stauroneis*. Последняя проба характеризуется наименьшими значениями pH и содержания электролитов среди всех изученных образцов. Таким образом, наблюдается единообразие в таксономической структуре разнообразия разных водоемов на уровне классов и порядков, но выявляются различия на уровне семейств и родов.

В результате анализа было выявлено, что большинство найденных видов имеют схожие экологические предпочтения. Эколога-географический анализ списка по сводке Бариновой с соавторами в целом показал, что большинство видов являются космополитами; олиго-бета-мезосапробионтами; бентосными (связанными с субстратом); олигогалобными/индифферентными; предпочитающими слабощелочной/нейтральный pH. Если рассматривать пробы по отдельности, то в них наблюдаются закономерности, характерные для всего списка видов.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. А. Чудаев

**Влияние регулярного воздействия пара электронных сигарет  
на двигательную активность грызунов  
(на примере джунгарского хомячка *Phodopus sungorus*)**

С. С. Бондаренко

Новосибирский государственный педагогический университет  
Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

В исследованиях зарубежных авторов описано, что введение различных доз никотина крысам и мышам приводит к повышению двигательной активности и тревожности. Исходя из предположения, что воздействие курительных смесей также усиливает показатели двигательной активности и тревожности, выявляли воздействие пара электронных сигарет, содержащего никотин, на поведение млекопитающих на примере джунгарского хомячка *Ph. sungorus*.

Животных содержали в однополых sibсовых группах, состоящих из 2–4 половозрелых особей. Опытная группа состояла из 16 самок и 12 самцов. Контрольная группа — из 10 самок и 12 самцов. В течение 40 дней грызунов два раза в день по 10 мин индивидуально подвергали экспозиции пара с концентрацией никотина 6 %. Для этого животных сажали в специальную камеру, в которую нагнетали пар. По истечении 40 дней с животными опытной и контрольной групп провели тест «Открытое поле», который используется для изучения поведения грызунов в новых (стрессогенных) условиях и позволяет оценить уровень эмоционально-поведенческой реактивности животного (эмоциональность) и стратегию исследовательского поведения (двигательную активность).

Выявлено, что двигательная активность самцов опытной группы значительно превышала таковую контрольной ( $p > 0,05$ ). Двигательная активность самцов опытной группы также значительно превышала эти показатели самок той же группы ( $p > 0,01$ ). Различий по эмоциональности не выявлено.

Таким образом установлено, что воздействие никотинсодержащих паров электронных сигарет усиливает двигательную активность самцов, что свидетельствует о межполовых различиях реагирования на никотин.

Научные руководители —  
канд. биол. наук П. А. Задубровский, канд. биол. наук И. В. Задубровская

## **Разработка биопрепарата для очистки сточных вод от синтетических поверхностно-активных веществ**

А. С. Бурлаченко

Кемеровский государственный университет

Огромное разнообразие загрязняющих веществ и их высокие концентрации в сточных водах определяют проблемы городских очистных сооружений, в том числе сохранение некоторого количества поверхностно-активных веществ (ПАВ) в воде. Предприятия, которые используют ПАВ, могут минимизировать выход детергентов в составе сточных вод за счет использования биопрепаратов. На базе НИИ биотехнологии КемГУ проводятся работы по выведению эффективного штамма-деструктора алкиламидобетаиновых ПАВ.

Проведен ряд исследований с цвиттер-ионным алкиламидобетаиновым детергентом *Socamidopropylbetaine* (САРВ). Было доказано, что ПАВ действительно эффективно связывается с белком в различных концентрациях, даже при концентрациях ниже критической концентрации мицеллообразования.

С целью последующего определения кинетики биодеструкции с помощью метода серийных разведений и спектрофотометрии с использованием штамма *Pseudomonas putida* (В-1827) найдена наибольшая концентрация сурфактанта, которая не останавливает жизнедеятельности микроорганизмов.

Средняя скорость биодegradации САРВ была определена оптическим методом и составила 21 день. Использовались штаммы *Bacillus subtilis* (В-4647), *Pseudomonas putida* (В-1827), сапропели, пробы которых были взяты из озер Томской области, активный ил. Установлено, что скорость деструкции ПАВ бактерией *Pseudomonas putida* наибольшая. С целью поиска фермента, который является основным участником процесса катаболизма САРВ у *Pseudomonas*, осуществлен метод белкового гель-электрофореза в полиакриламидном геле и ИК-спектроскопия.

Таким образом, был исследован процесс биодеструкции САРВ и обнаружено, что бактерии рода *Pseudomonas* являются перспективными биодеструкторами ПАВ бетаинового ряда.

Научный руководитель — канд. хим. наук, доц. О. В. Салищева

**Поведенческая активность и использование пространства вольера  
снежными барсами (*Panthera uncia*) разных возрастных групп  
в условиях зоопарка**

А. А. Гудим

Новосибирский государственный аграрный университет

Хорошим показателем благополучия и способности адаптироваться к условиям внешней среды является степень разнообразия поведения животного. Выпадение из репертуара даже редких форм поведения часто свидетельствует о снижении уровня благополучия.

Цель исследования — оценка поведенческой активности и использования пространства вольера снежными барсами (*Panthera uncia*) разных возрастных групп в условиях зоопарка. Оценивали поведение животных в летний сезон методом сплошного протоколирования. Данный метод подходит для регистрации частоты отдельных форм поведения, в особенности редких, с короткой продолжительностью и подсчета длительности событий.

Поведенческий репертуар снежных барсов включал в себя несколько типов активности: пищевая, двигательная, социальная, игровая, комфортная, общение с посетителями, наблюдение и исследование.

В связи с физиологическими особенностями животных активность барсов изменялась в течение дня. Пик активности выпадал на период с 16:00 до 22:00.

За весь период наблюдений барсы всех возрастных групп большую часть времени находились в укрытии (от 21,19 до 57,42 %,  $p < 0,05$ ). Это связано с тем, что в природе данный вид хищников ведет скрытный образ жизни.

Сравнительный анализ показал, что в течение суток поведенческая активность и использование пространства вольера снежными барсами повышается ближе к вечеру, что соответствует поведению животных в естественной для них среде обитания.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. Е. А. Борисенко

## Защитный эффект кратковременного прайминга мелатонином растений картофеля на фоне хлоридного засоления

Е. Д. Данилова

Томский государственный университет

В настоящее время засоленные почвы занимают более 900 млн га по всему миру. Избыточные концентрации солей нарушают осмотический статус растений и оказывают токсическое действие на клеточный метаболизм. Современные агрономические методы, направленные на реабилитацию засоленных земель, не способны решить эту проблему на глобальном уровне. Экономически выгодный и экологически безопасный способ повышения стрессоустойчивости растений связан с применением фитогормонов. В последние годы была показана высокая эффективность мелатонина в качестве протекторной молекулы при повреждающем действии абиотических факторов. Цель работы — выяснение механизмов защитного эффекта кратковременного действия мелатонина в отношении растений картофеля на фоне хлоридного засоления.

Исследования проводили на растениях *Solanum tuberosum* L. среднеспелого сорта Луговской. Оздоровленные растения-регенеранты получали методом микроклонального размножения *in vitro*; адаптировали микроклоны к жидкой среде с половинным составом микро- и макроэлементов Мурашиге — Сурашиге. Одну часть растений подвергли 24-часовой прикорневой обработке мелатонином с последующим хлоридным засолением (6 суток), другая часть находилась в среде с совместным внесением мелатонина и хлорида натрия (6 суток). Осуществлена оценка морфологических показателей, окислительного и осмотического статуса растений, а также состояния фотосинтетического аппарата растений.

Нами показано, что мелатонин оказывает выраженный протекторный эффект на фотохимическую активность фотосистемы II листьев картофеля, задерживает деградацию основных фотосинтетических пигментов и способствует регуляции столонообразования. Полученные данные расширяют представления о защитном действии мелатонина в стрессорных условиях, что способствует разработке наиболее эффективных алгоритмов его применения.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90051.*

Научные руководители —

д-р биол. наук РАН В. В. Кузнецов, канд. биол. наук, доц. М. В. Ефимова

## Влияние погодных условий на зараженность вирусом птичьего гриппа речных уток (рода *Anas*) на юге Западной Сибири

О. Р. Друзяка

Новосибирский государственный университет

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск  
ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск

Вирусы гриппа типа А имеют широкий круг хозяев. Основным естественным резервуаром, обеспечивающим непрерывную циркуляцию вируса, являются дикие птицы водного и околоводного комплекса, относящиеся к отрядам Гусеобразные и Ржанкообразные. Цель настоящего исследования — выявить влияние погодных условий на зараженность низкопатогенными штаммами вируса птичьего гриппа (LPAIV) среди речных уток (рода *Anas*) на севере Кулундинской равнины.

Зараженность уток вирусом гриппа определяли по клоакальным смывам от 625 особей уток из рода *Anas*, добытых в сезоны весенней и осенней охоты с 2015 по 2019 г. на территории Карасукского района Новосибирской области. Связь зараженности с погодными условиями исследовали методом обобщенного линейного моделирования (GLM). Выявлена 1000 лучших моделей для определения наиболее важных факторов зараженности. Исследовано влияние биотических (пол, возраст, вид, размеры особи) и абиотических факторов (средняя температура и влажность за 0–90 дней до даты отбора, а также место и день года, когда были взяты пробы).

Среди абиотических факторов наибольший эффект на вероятность инфицирования оказывали влажность (коэффициент модели  $0,476 \pm 0,349$ ,  $p = 0,08$  для 60,9 % лучших моделей) и температура воздуха за 41–50 суток до отлова птицы. Среди других переменных наиболее существенными оказались: год отбора пробы (это объясняется межгодовой динамикой зараженности), пол птицы (известна зависимость заболеваемости от пола) и влажность воздуха в течение 10 дней перед датой отлова.

Таким образом, выявлена зависимость уровня зараженности LPAIV в сезон осенних миграций от погодных условий, предшествующих сбору проб. Это позволяет говорить о том, что погодные условия в летний период могут частично определять уровень зараженности вирусом осенью.

Научные руководители —

д-р биол. наук, проф. А. М. Шестопалов, И. Г. Фролов

## Население ручейников (Trichoptera) водотоков Горной Шории

С. С. Ефстифеева

Новосибирский государственный университет

Цель работы — выявить особенности таксономической структуры населения ручейников водотоков Горной Шории. Для достижения цели были решены следующие задачи: 1) количественный сбор личинок ручейников в водотоках Горной Шории; 2) определение личинок ручейников до вида; 3) сравнение таксономической структуры населения ручейников Горной Шории, Западного Саяна, Салаира; 4) выявление особенностей зоогеографической структуры населения ручейников Горной Шории.

В процессе работы проанализированы пробы, собранные в 2018 г. на территории Таштогольского района Кемеровской области. Пробы макрозообентоса, собранные на восьми реках Шорского Национального парка фиксировались 70 % этанолом. Личинки ручейников изымались из проб, определялись до вида и подсчитывались. Проанализированы 24 пробы.

В ходе работы были выявлены 22 вида, принадлежащие к 8 различным семействам. При сравнении данных по Горной Шории с данными по Салаиру и Западным Саянам установлено, что уровень сходства по коэффициенту Жаккара составляет 0,19 и 0,28, соответственно. Среди видов общих для Горной Шории и Западного Саяна можно выделить: *Hydropsyche valvata*, *Hydropsyche pellucidae*, *Dicosmoecus obscuripennis*, *Micrasema gelidum*, *Rhyacophila lata*, *Rhyacophila impar*; *Rhyacophila angulata*, *Rhyacophila cedrensis*, *Rhyacophila narvae*, *Halesus tessellatus*, *Agapetus sibiricus*, *Neophylax ussuriensis*, *Stenopsyche marmorata* (виды с восточно-палеарктическим распространением), *Hydropsyche ornatula*, *Anabolia furcata*, *Rhyacophila sibirica* (виды с западно-палеарктическим распространением).

Исходя из полученных данных, мы считаем, что территорию Горной Шории можно назвать пограничной для восточно-палеарктических видов, поскольку именно в малых реках данного района процент восточно-палеарктических видов еще относительно высок — 29,73 %, когда как для Салаира данный показатель не превышает 15 %.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. С. Батурина

**ДНК-баркодирование метацеркарий трематод рода  
*Diplostomum* Nordmann, 1832 озера Чаны**

Г. В. Изотова

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный аграрный университет

Трематоды рода *Diplostomum* Nordmann, 1832 — широко распространенные паразиты пресноводных рыб, возбудители различных форм диплостомозов, которые ведут к слепоте, нарушению развития и смерти рыб, что существенно вредит рыбному хозяйству. Все полученные ранее сведения о видовом составе диплостомид озера Чаны основаны на анализе морфологических признаков, но их слабая выраженность у метацеркарий сильно снижает точность видового определения. В настоящей работе для установления видового разнообразия метацеркарий и их распределения у различных хозяев был использован ДНК-баркодинг — определение вида по короткому участку ДНК.

В ходе работы было осмотрено более 150 особей 10 видов. Тотальная ДНК выделена из 65 метацеркарий с использованием 5 % водного раствора ионообменной смолы Chelex. В качестве ДНК-маркера использован фрагмент первой субъединицы митохондриального гена цитохромоксидазы длиной 587 нуклеотидов. В ПЦР использованы праймеры и условия, разработанные Steenkiste и соавторами (2014). Очистка ампликонов и дальнейшее секвенирование выполнено в ЦКП «Геномика» СО РАН. Для установления максимального сходства с референсными последовательностями использован сервис NCBI BLAST.

Установлено, что в озере Чаны встречаются метацеркарии трех видов рода — *D. spathaceum*, *D. pseudospathaceum* и *D. baeri*. Наибольшее количество хозяев отмечено у *D. pseudospathaceum* — этот паразит отмечен у всех исследованных видов рыб. В их число вошли плотва, окунь, судак, язь, сазан, елец, щука, лещ, золотой и серебряный карась. *D. spathaceum* отмечен у семи видов рыб: у серебряного и золотого карася, судака, ельца, язя, сазана и окуня. Вид *D. baeri* в озере Чаны отмечен только у окуня. Также в ходе работы были собраны данные о морфологии исследованных метацеркарий, которые в дальнейшем могут быть использованы для уточнения видового определения диплостомид рыб по известным на настоящий момент диагностическим признакам.

Научный руководитель — П. Г. Власенко

**Популяционная характеристика ячменя короткоостого  
(*Hordeum brevisubulatum* (Trin.)Link) в районах Центральной Якутии**

К. В. Кардашевская  
Северо-Восточный федеральный университет  
им. М. К. Аммосова, Якутск

*Hordeum brevisubulatum* (Trin.)Link является доминантом и содоминантом пойменных и аласных лугов. Цель работы — изучение популяционных характеристик ценопопуляций (ЦП) данного вида в Центральной Якутии.

Материал собран в 2019–2020 гг. в четырех районах Центральной Якутии. Всего исследовано 29 ЦП. Исследование проведено по общепринятым популяционно-онтогенетическим методам. Подсчет особей разных онтогенетических состояний провели на учетных площадках  $1 \times 1$  и  $0,25 \times 0,25$  м в 8-кратной повторности.

В ЦП разных районов типы спектров в основном бимодальные и левосторонние, за исключением ЦП 14 Хангаласского и ЦП 24 Намского районов с правосторонними спектрами, так как в этих ЦП преобладает старшая группа (зрелые и старые генеративные растения). Во всех ЦП Центральной Якутии наблюдается высокое значение индекса восстановления Ивос ( $0,144-0,478$ ), что свидетельствует о преобладании прегенеративных групп, которые способны к восстановлению ЦП. Наибольшее значение индекса возрастности (Ивоз) характерно для аласных ЦП Чурапчинского района ( $1,40-3,62$ ) и надпойменных ЦП Амгинского района ( $1,21-2,60$ ) за счет высоких значений генеративных ( $g_1, g_2, g_3$ ) особей. Эти ЦП способны к размножению. Индекс эффективности (Иэфф) по районам составляет: Чурапчинский —  $0,39-0,61$ , Хангаласский —  $0,43-0,71$ , Намский —  $0,45-0,59$ , Амгинский —  $0,46-0,54$ . Значение индекса старения (Iс) очень низкое ( $0,01-0,04$ ), так как отмечено наличие малых долей субсенильных и полное отсутствие сенильных растений. По классификации «дельта-омега» наблюдается преобладание молодых ценопопуляций. Кроме молодых (75,9%), встречаются другие типы ЦП: переходные (13,8%), зреющие (6,9%) и зрелые (3,4%). В годы исследований старые и стареющие типы ЦП не представлены.

Таким образом, состояние ЦП *Hordeum brevisubulatum* в Центральной Якутии удовлетворительное. ЦП способны к самовосстановлению за счет преобладания младших и старших генеративных онтогенетических групп и малой доли субсенильных и сенильных особей.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. В. Е. Кардашевская

**Экспериментальная оценка возможности девственного размножения  
в алтайской популяции древесной кобылки *Ognevia longipennis*  
(Shiraki, 1910) (Acrididae, Melanoplinae)**

С. Ю. Козырева

Новосибирский государственный университет

Саранчовые семейства Acrididae — обоеполые насекомые. Ранее было показано, что самки некоторых видов саранчовых могут делать яйцекладку и без спаривания с самцами и давать партеногенетическое поколение [1]. Явление партеногенеза у саранчовых изучено слабо. Цель данной работы — экспериментальная оценка девственного размножения древесной кобылки *Ognevia longipennis* (Shiraki, 1910) из локальной популяции долины р. Эдиган (Республика Алтай). В лабораторных условиях была сформирована контрольная группа из четырех пар самцов и самок и экспериментальная группа из четырех виргинных самок этого вида. Сформированные контрольные пары и экспериментальные самки содержались в индивидуальных садках. Особенности яйцекладки *O. longipennis* исследовались впервые. В контрольных парах самки сделали 1–3 яйцекладки (кубышки), каждая из которых состояла из 12–17 яиц (общее количество исследованных яиц — 58). Девственные самки отложили по одной кубышке, каждая из которых содержала 0–16 яиц (общее количество исследованных яиц — 42). Во всех яйцах, отложенных самками из контрольной группы, зародыши развивались до заключительной стадии эмбрионального развития. В яйцекладках экспериментальной группы самок зародыши развивались только в одной кубышке. Из 42 яиц эмбрионы формировались только в 14 яйцах (33,33 %). Таким образом, самки *O. longipennis* способны давать партеногенетическое поколение, однако развитие эмбрионов в яйцекладках виргинных самок значительно ниже по сравнению с контрольной группой. Можно предположить, что партеногенез у исследованного вида *O. longipennis* может играть роль в поддержании существования изолированной популяции долины реки Эдиган.

---

1. Uvarov B. P. Grasshoppers and locusts a handbook of general acridology. Cambridge: Anti-locust research centre at the university press, 1966. P. 481.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 18-04-00192.*

Научный руководитель — О. Г. Булзю

**Разнообразие онтогенетических спектров ценопопуляций земляники восточной (*Fragaria orientalis* Losinsk.) в районах Центральной Якутии**

Н. К. Корякина  
Северо-Восточный федеральный университет  
им. М. К. Аммосова, Якутск

Земляника восточная (*Fragaria orientalis* Losinsk.) — многолетнее, столонообразующее травянистое, ресурсное растение. Цель работы — изучение онтогенетической структуры дикорастущих ценопопуляций (ЦП) вида в центральных районах Якутии. Исследования проводились в течение трех лет (2018–2020 гг.) в шести районах Центральной Якутии. В 2018–2019 гг. исследовали в Намском районе в динамике 8 ЦП (ЦП 1–8), Амгинском — 9 ЦП (ЦП 9–17). В 2020 г. изучили 17 ЦП: в Хангаласском районе — 9 (ЦП 18–26), Чурапчинском — 4 (ЦП 27–30), Верхневиллюйском — 2 (ЦП 31–32) и Усть-Алданском — 2 (ЦП 33–34). Исследования провели по общепринятым онтогенетическим и популяционно-демографическим методам.

В 2018 г. ЦП вида Намского и Амгинского районов характеризовались тремя типами спектров — левосторонним, правосторонним и бимодальным, причем преобладали ЦП с бимодальным спектром (62,5 %). ЦП с левосторонними типами спектра составляли 25,0 %. В 2019 г. правосторонний спектр проявили ЦП 3 и 4. Амгинский район характеризуется в основном ЦП с бимодальными (44,4 %) и правосторонними (44,4 %) типами спектров, но среди них есть и левосторонний тип ЦП 9 (11,2 %). В 2020 г. бимодальный тип спектра преобладал. В Хангаласском районе такой тип спектра имели 77,8 % ЦП, остальные были правосторонними. Чурапчинские и Усть-Алданские ценопопуляции представлены исключительно бимодальными спектрами. В Верхневиллюйском районе исследованные ЦП имеют правосторонний тип спектра.

Таким образом, онтогенетическая структура ЦП *F. orientalis* представлена разными типами спектров. В годы исследования преобладают ЦП с бимодальным спектром и отсутствуют ЦП с центрированным спектром. В целом, ценопопуляции *F. orientalis* в центральной Якутии являются нормальными и неполночленными из-за отсутствия проростков, субсенильных и сенильных растений, способны к самоподдержанию вегетативным путем (столонами).

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. В. Е. Кардашевская

## Разложение древесного опада трутовыми грибами (ХМАО-Югра)

М. С. Кучумов

Нижевартовский государственный университет

Гнилая древесина — это очень сложная и важная структура, взаимодействующая с живыми организмами в лесу. Но утрата разнообразия и плотности произрастания древостоя в ходе его разрушения грибами нарушает круговорот веществ, что ставит под угрозу не только существование крупнейших экосистем, но и благополучие человека. Микобиота в России и Югре относительно других живых организмов изучена достаточно слабо, а исследования носят локальный характер. Цель работы — анализ разложения древесины афиллофоровыми грибами на территории памятников природы островов Смольный и Овечий.

Исследования на участках с применением стандартных методик проведены автором впервые с августа по ноябрь 2019 г. Сбор образцов древесного опада и афиллофоровых грибов выполнен трансектно-линейным методом. В учет шел весь находящийся на пути опад, превышающий 3 см в диаметре и 15 см в длину.

Всего было собрано 47 образцов трутовых грибов и 106 образцов древесного опада на исследуемой территории. Идентифицировано 19 видов из 13 родов, 8 семейств, 3 классов и 2 отделов трутовых. Самым пораженным видом деревьев на территориях исследования является береза. Из субстратов по пораженности выделяется «поваленный ствол» и «прямостоячий ствол». Средний диаметр и длина древесного опада на островах составляет соответственно 20,96 см и 495,54 см. Средняя степень разложения всего опада 3,12 балла. Статус «частично утеряна» выявлен у древесной коры (52,38 % от общего числа образцов), исключением является мелколиственный лес, где параметр «плотная кора» составляет 63,41 %. На исследованной территории крона в большинстве случаев у древесного опада отсутствует и составляет 57,14 % от общего числа образцов, однако в пойме этот показатель достигает 70,59 %.

Таким образом, можно сделать вывод: антропогенное влияние на данные биоценозы незначительно, цикл разложения не нарушен, за исключением трансекты на о. Овечьем, где берега подвержены половодьям.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. О. Н. Скоробогатова

**Позднеплейстоценовый энтомокомплекс местонахождения  
Красный Яр (Новосибирская область)**

В. И. Леонова, Н. Н. Голосова  
Новосибирский государственный университет

Четвертичный период начался примерно 2,6 млн лет назад и продолжается в настоящее время. Насекомые, как наиболее чувствительные к изменениям окружающей среды организмы, являются ценным материалом для построения ландшафтных и климатических условий конца плейстоцена. Основным отрядом среди отложений четвертичных насекомых являются жесткокрылые, обладающие наиболее прочным хитиновым покровом, реже встречаются двукрылые, перепончатокрылые, ручейники и др. Результаты исследований остатков насекомых из четвертичных отложений находят применение в разных областях: в геологии, археологии, зоогеографии, современной энтомологии.

Одним из наиболее древних энтомокомплексов четвертичного периода юга Западно-Сибирской равнины является местонахождение Красный Яр в окрестностях г. Новосибирск. Обнаруженные слои, по териологическим данным, ранее были отнесены к казанцевскому межледниковью (130 000–80 000 лет назад).

Выявленный энтомокомплекс состоит из 28 видов жесткокрылых из 10 семейств и из двух представителей отряда двукрылые. По количеству видов в энтомокомплексе преобладают семейство жужелиц Carabidae (15 видов), составившие 71 % фауны, и семейство долгоносиков Curculionidae (5 видов) — 24 % фауны. Представители оставшихся восьми семейств отмечены единично. По составу энтомокомплекса можно реконструировать условия в окрестностях Красного Яра конца плейстоцена. Вероятно, территория была представлена лугово-степными ландшафтами с присутствием древесно-кустарниковых пород. В настоящий момент ареалы некоторых видов смещены в северном и восточном направлениях. Присутствуют также виды, обитающие в горах от Кузнецкого Алатау до Средней Азии. Это указывает на то, что климат в окрестностях Красного Яра в холодные этапы казанцевского межледниковья был несколько холоднее современного.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 19-04-00963.*

Научный руководитель — канд. биол. наук А. А. Гурина

## **Влияние полиметаллического стресса на окислительный и фотосинтетический статус растений ячменя**

Е. А. Мухаматдинова

Томский государственный университет

В настоящее время сотни миллионов гектаров земель загрязнены солями тяжелых металлов и алюминия, что сопровождается снижением продуктивности агроценозов. Влияние отдельных тяжелых металлов на состояние растений достаточно изучено, однако в естественной среде растения в подавляющем большинстве случаев сталкиваются с умеренным повышением уровня доступности в почве одновременно целого ряда элементов, что делает приоритетной задачей изучение реакции растения именно на полиметаллический стресс. Цель исследования заключалась в оценке влияния полиметаллического стресса на морфологические и физиологические параметры растений ячменя.

Исследования проводили на растениях ячменя в условиях, максимально приближенных к условиям произрастания на территориях, загрязненных солями тяжелых металлов. Используемые концентрации тяжелых металлов ( $Mn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ) и алюминия подбирали на основании типичных значений концентраций этих ионов в почвенном растворе промышленно загрязненных кислых почв. Была осуществлена оценка морфологических показателей, окислительного и фотосинтетического статуса растений.

Важным показателем состояния растительного организма является эффективное функционирование ассимиляционного аппарата. Содержание всех основных групп фотосинтетических пигментов — хлорофиллов, *a*, *b* и каротиноидов снижалось в ответ на полиметаллический стресс.

Интенсивность перекисного окисления липидов как одного из универсальных механизмов регуляции внутриклеточного метаболизма растений оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой. Содержание МДА в растениях опытных вариантов превышало контрольные значения.

Таким образом, нами показано, что важные системы функционирования растений ячменя в значительной степени подвержены воздействию полиметаллического стресса.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-54-00013.*

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. М. В. Ефимова

**Состояние ценопопуляций смородины голенькой  
(*Ribes glabellum* Trautv. et Meyer.) в Центральной Якутии**

А. П. Назарова  
Северо-восточный федеральный университет  
им. М. К. Аммосова, Якутск

Смородина голенькая (*Ribes glabellum* Trautv. et Meyer.) является широко распространенным в Якутии, неприхотливым, зимостойким, засухоустойчивым кустарником, перспективным для выращивания в культуре в условиях местного резкоконтинентального климата. Цель — оценка виталитетного и онтогенетического состояния природных ценопопуляций (ЦП) вида в пяти районах Якутии.

Исследования были проведены в июле — начале августа 2019–2020 гг. Всего исследовано 29 ЦП вида. В Намском районе это ЦП 1–9, Амгинском — ЦП 10–17, Верхневилуйском — ЦП 18–19, Усть-Алданском — ЦП 20–27 и Хангаласском — ЦП 28–29. Счетной единицей принята особь. В каждой ЦП на 20 особях проводили морфометрические измерения и подсчеты 30 признаков.

Результаты исследования виталитетного состояния показали следующее: в ЦП 2019 г. в Намском районе 44 % являлись процветающими (3, 6, 7, 9), а остальные — ЦП-депрессивными (1, 2, 4, 5 и 8). В том же году в Амгинском районе большинство (89 %) ЦП являлись процветающими (ЦП 10–17), кроме депрессивной ЦП 14. В 2020 г. в Верхневилуйском районе ЦП 18 являлась депрессивной, ЦП-19 — процветающей. В Усть-Алданском районе количество процветающих (ЦП 20, 21, 22 и 26) и депрессивных (23, 24, 25 и 28) ЦП оказалось одинаковым. В Хангаласском районе ЦП 28 являлась депрессивной, ЦП 29 — процветающей.

На основе соотношения значений индексов возрастности ( $\Delta$ ) и эффективности ( $\omega$ ) ЦП провели классификацию по «дельта-омега». В Центральной Якутии представлены все шесть типов повозрастности ЦП. Преобладают переходной, зрелый и стареющий типы ЦП (составляют 34,5 24,1 и 20,7 % соответственно), молодых ЦП — 13,8 %, зреющих и стареющих ЦП — по 3,4 %.

Таким образом, первичное обследование в 2019 и 2020 г. ЦП *Ribes glabellum* в разных районах показало большое разнообразие как виталитетного, так и онтогенетического состояний ЦП вида.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. В. Е. Кардашевская

## Онтогенетическая структура ценопопуляций шиповника иглистого (*Rosa acicularis* Lindl.) в Центральной Якутии

Т. П. Николаев  
Северо-восточный федеральный университет  
им. М. К. Аммосова, Якутск

Онтогенетическая структура ценопопуляций *Rosa acicularis* в растительных сообществах отображает онтогенетические спектры. В районах Центральной Якутии исследовали 20 ценопопуляций (ЦП) в разных типах фитоденозов: в Амгинском районе — ЦП 1–8, Верхневилуйском — ЦП 9–18 и Усть-Алданском — ЦП 19–20. Исследовали с использованием популяционно-онтогенетических методов.

Анализ данных онтогенетической структуры ЦП показал, что в Амгинском районе большинство ЦП (62, 5 %) имеет левосторонний спектр с абсолютным максимумом на группе виргинильных, а остальные 37,5 % имеют бимодальный спектр, отличающийся двумя максимумами: первый в группе виргинильных особей (v), второй — на временно нецветущих (gv) особях. В Верхневилуйском районе спектры распределились по-другому: доминирует бимодальный спектр, отмеченный в 50 % ЦП, левосторонний ЦП — в 30 %, реже встречается правосторонний спектр — в 20 % ЦП. Ценопопуляции Усть-Алданского района имеют левосторонний (ЦП 19) и бимодальный спектры (ЦП 20). Базовый спектр исследованных ценопопуляций в Амгинском районе левосторонний, близкий к центрированному, так как максимум приходится на особи молодого генеративного (g1) онтогенетического состояния при отсутствии особей ювенильного (j) состояния. В Усть-Алданском районе базовый спектр оказался левосторонним. Максимум приходится на молодые генеративные особи. В спектре отсутствуют сенильные (s) особи. В Верхневилуйском районе базовый спектр бимодальный, представлены все онтогенетические состояния. Первый максимум — на молодых особях виргинильного состояния, второй максимум — на временно нецветущих генеративных особях.

Таким образом, ЦП *Rosa acicularis* являются нормальными неполночленными из-за отсутствия особей отдельных онтогенетических состояний (j и s). Преобладание бимодального спектра характеризует выраженный период старения с регулярным возобновлением. Это связано с особенностью биологии вида — вегетативным размножением ксилоризомами.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. В. Е. Кардашевская

## **Экологическая оценка шумового загрязнения от автотранспорта на территории г. Улан-Удэ**

Т. Д. Осорова, А. В. Спиридонова  
Восточно-Сибирский государственный университет  
технологий и управления, Улан-Удэ

В настоящее время население городов находится в условиях постоянно-го акустического дискомфорта. Шумовое загрязнение является распространенным видом неблагоприятного экологического воздействия на организм человека. Длительное шумовое воздействие может привести к изменениям функционального состояния центральной нервной и сердечно-сосудистой системы, гипертонической болезни, хронической усталости.

На территории г. Улан-Удэ автотранспорт является одним из основных источников шумового загрязнения. Жалобы на автотранспортный шум составляют около 80 % всех жалоб на городские шумы. Это определяет необходимость контроля шумового загрязнения на самых загруженных улицах города. Целью научной работы является оценка шумового загрязнения от автотранспорта г. Улан-Удэ.

Проведенный анализ загруженности автодорог Улан-Удэ позволил выбрать участки улично-дорожной сети для оценки шумового загрязнения. При выборе точек для измерений учитывались такие параметры, как интенсивность движения автотранспортных средств, характеристика дорог, близость к жилым домам, а также наличие источников шумоподавления. Для определения шумовой характеристики использовался шумомер АТЕ-9015.

В результате анализа полученных результатов было выявлено превышение допустимых уровней шумового загрязнения во всех выбранных для исследования точках в среднем на 15–25 %. В местах, где присутствовали зеленые насаждения или искусственные шумоподавляющие конструкции, наблюдалось снижение шумового воздействия от автомобильной дороги. Величина снижения шума зависит от характера посадок, породы деревьев и кустарников. Вместе с тем было выявлено, что на 40 % исследованных улиц зеленые насаждения отсутствуют. Для снижения уровня шума предложены мероприятия, которые позволят снизить уровень до нормативных значений, в том числе озеленение территории вдоль автомобильных дорог.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. О. Н. Чудинова

## **Влияние глобальных атмосферных осцилляций Северного полушария на численность кряквы в сезон размножения**

С. А. Пешкова

Новосибирский государственный университет

Глобальное изменение климата тесно связано с изменением численности животных, в том числе и птиц. Ежемесячные и ежегодные колебания атмосферного давления, температуры и количества осадков влияют непосредственно как на успешность размножения, так и на выживаемость птиц в периоды миграции и зимовки. Мы поставили перед собой цель выяснить, как различные атмосферные осцилляции Северного полушария влияют на численность одного из вида уток — кряквы (*Anas platyrhynchos*).

Для анализа мы использовали восемь индексов глобальных атмосферных осцилляций, имеющих значительное влияние на Евразию и Северную Америку (включая Северо-Атлантическую осцилляцию, индекс Восточной Атлантики / Западной России, индекс Скандинавии и другие). Каждый индекс представлен 12 среднемесячными значениями для каждого года. Для формирования представления о динамике численности кряквы мы использовали данные о количестве гнездящихся крякв на оз. Кротовая Ляга (Новосибирская область) с 1970 по 2018 г., а также данные из открытых источников о численности кряквы в сезон размножения на территории Российской Федерации, Европы, США и Канады. В различных локациях учетные данные были получены разными способами, поэтому прямое сопоставление этих данных невозможно. Кроме того, на разных территориях длительность наблюдений варьировалась от 10 до 46 лет.

Для поиска зависимости между климатическими индексами и динамикой численности кряквы мы использовали обобщенные линейные модели, построенные с помощью пакета `glmulti 1.0.8` в среде R 4.0.3. Использование этого метода позволяет выявить тенденции, характерные для численности кряквы в сезон размножения. При этом мы использовали имеющиеся данные как относительные данные о численности, а не как абсолютные. Таким образом, мы выявили наиболее значимые атмосферные осцилляции, которые описывают динамику численности кряквы; при этом важность одних и тех же паттернов атмосферных осцилляций для различных географических территорий оказалось разной.

Научный руководитель — И. Г. Фролов

**Виды-двойники рода *Metarhizium* Верхнего Приобья**

А. К. Прокопович

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

В настоящее время актуален переход на экологически чистое производство. Альтернативой химическим пестицидам являются широко распространенные в природе энтомопатогенные грибы. Нами был проведен анализ изолятов одного из доминирующих родов энтомопатогенных грибов — *Metarhizium*, выделенных из почв двух зон Новосибирской области (степная зона и северная лесостепь), из различных станций: березово-осиновые леса колочного и кружевного типа; лугово-степные разнотравно-злаковые ассоциации; поля с многолетним возделыванием картофеля; залежи. В результате секвенирования региона гена фактора элонгации выделенных изолятов было детектировано три вида изучаемого рода: *M. robertsii* (54), *M. brunneum* (35), *M. pemphigum* (2). Следует отметить, что для *M. brunneum* был характерен более высокий генетический полиморфизм, чем для *M. robertsii*, что выражается в больших дистанциях между гаплогруппами и согласуется с данными других исследований. Изоляты *M. robertsii* встречались в обоих широтных зонах — степи и северной лесостепи и приуроченность была статистически не существенна. *M. brunneum* тяготел к северной лесостепи. В наиболее засушливых луговых станциях наблюдалось очевидное преобладание *M. robertsii* (100 %). В почвах лесов, картофельных полей, залежей встречались как *M. robertsii*, так и *M. brunneum*. Полученное нами распределение соотносилось с температурными предпочтениями данных видов грибов. При высокой температуре (35 °C) более активный рост проявили изоляты *M. robertsii* (по сравнению с *M. brunneum*), а при низкой температуре (10 °C) наблюдался обратный эффект. Следует отметить, что *M. robertsii* был более слабым антагонистом почвенных бактерий в сравнении с *M. brunneum*. Таким образом, показано, что *M. robertsii* более приспособлен к засушливым станциям, чем *M. brunneum*, поэтому использование *M. robertsii* будет более эффективным при обработке насекомых, активно питающихся на растениях и подверженным воздействию высоких температур. С другой стороны, использование *M. brunneum*, возможно, будет более эффективным для регуляции насекомых в почве.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. Н. Ярославцева

**Оценка влияния пассажей гриба *Metarhizium robertsii* через насекомых и растения на его инсектицидные свойства и антагонистическую активность**

Х. П. Толоконникова

Новосибирский государственный аграрный университет

Энтомопатогенный гриб *Metarhizium robertsii* в последнее время активно изучается в качестве эндофита растений. Роль эндофитного существования в жизненном цикле энтомопатогенных грибов мало изучена. Нами проведено восемь раундов пассажей *M. robertsii* (штамм МВ-1) через гусениц вощинной огневки (*Galleria mellonella*), растения томата (*Solanum lycopersicum*) и питательную среду Сабуро-агар (1/4) с целью оценки влияния разных хозяев на инсектицидную и антагонистическую активность данного гриба.

Заражение гусениц проводили перекутаным способом, инокуляцию растений — путем замачивания семян (титр суспензии  $5 \times 10^7$  конидий/мл). Реизолировали грибы путем посева конидий с мумифицированных гусениц или частей инокулированных растений на Сабуро-агар. Полученные в результате восьми раундов пассажей линии гриба сравнивали между собой и с исходной культурой по уровню инсектицидной активности ( $LT_{50}$ ) на личинках *G. mellonella* и *Leptinotarsa decemlineata*, также по ингибирующей активности в отношении фитопатогенов (*Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Bipolaris sorokiniana*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*).

Установлено, что пассажи через растения и насекомых привели к снижению вирулентности в сравнении с исходным штаммом ( $p < 0,017$ ). При этом вирулентность снизилась не только по отношению к тест-объекту, через который проводили пассажи (*G. mellonella*), но и к личинкам *L. decemlineata*. Выявлено изменение антагонистических свойств пассированных линий *M. robertsii* в отношении фитопатогенов. Ингибирующие свойства изолята, пассированного через насекомых, были достоверно выше ( $p < 0,04$  в сравнении с исходным штаммом) в отношении *F. solani* и *B. sorokiniana* — культур фитопатогенов, характеризующихся низкой скоростью роста. Пассажи через растения также привели к росту ингибирующей активности ( $p < 0,01$  в сравнении с исходным штаммом) в отношении быстрорастущих культур фитопатогенов (*R. solani*, *B. cinerea*).

Научные руководители — канд. с.-х. наук, доц. О. Г. Томилова;  
д-р биол. наук, проф. М. Л. Кочнева

**Санитарно-микробиологическая оценка  
бутилированной и водопроводной воды новосибирска**

Д. В. Толстихина, М. В. Степанова,  
А. А. Жолобова, Д. С. Приступин, М. С. Акунеева  
Новосибирский государственный аграрный университет

Вода — это ценное соединение природной среды и источник важнейших компонентов в организме человека. Бытует мнение, что бутилированная вода чище, чем водопроводная. Показателями эпидемиологической опасности воды являются общее микробиологическое число (ОМЧ) и количество санитарно-показательных микроорганизмов.

Для оценки санитарно-микробиологического состояния воды в г. Новосибирск были проанализированы пробы водопроводной и бутилированной воды. Водопроводная вода была отобрана на трех улицах города: Восход, В. Высоцкого и Б. Богаткова. Бутилированная вода была представлена двумя образцами: «Горный источник» и «Тигирецкая». Определение ОМЧ воды проводили глубинным методом Коха на среде МПА. Кишечную палочку выделяли на среде Эндо.

Выявлено, что ОМЧ проб воды с ул. Б. Богаткова и ул. В. Высоцкого составляет соответственно 4,5 и 40 КОЕ/мл. Такая вода является чистой и пригодной для питьевых целей. Общее количество микроорганизмов в пробе воды с ул. Восход превышает 300 КОЕ/мл. Это свидетельствует о том, что такую воду нельзя употреблять для питья. Кроме того, в этом образце обнаружена кишечная палочка, которая может вызвать различные заболевания. При анализе бутилированной воды выявлено, что ее качество неудовлетворительное, о чем свидетельствует высокое микробное загрязнение. В воде «Тигирецкая» ОМЧ составило 162 КОЕ/мл. При употреблении такой воды необходимо проводить термическую обработку. Самым загрязненным образцом стала вода «Горный источник». В этом варианте ОМЧ составило более 500 КОЕ/мл. Такая вода не пригодна для питьевых и бытовых целей.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что употребление бутилированной воды не гарантирует безопасность. Во время разлива воды в тару могут быть нарушены санитарные нормы.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. Т. В. Холдобина

**Почвы и условия формирования нахождения в них тяжелых металлов  
из отвалов угледобывающих карьеров**

А. А. Ужогова

Новосибирский государственный технический университет  
Институт геологии и минералогии  
им. В. С. Соболева СО РАН, Новосибирск

Актуальность исследования обусловлена тем, что тяжелые металлы (ТМ), накапливаясь в почве, особенно в верхних гумусовых горизонтах, способны вступать в трофические цепи и оказывать влияние на растительность, животных и здоровье человека. В качестве объекта исследования были выбраны отвалы трех угольных месторождений (Черногорское, Назаровское и Листвянское), расположенных в Восточной Сибири. Эти отвалы были рекультивированы около 30–40 лет назад по технологиям, принятым в угольной отрасли. Цель исследования — изучить содержание основных химических элементов, формирующих геохимический фон на рекультивированных участках, в сопоставлении с природными фоновыми почвами.

Образцы исследовались на сканирующем электронном микроскопе. Элементный состав твердых проб анализировался методом рентгенофлуоресцентного анализа с использованием синхротронного излучения с регистрацией на Si(Li) детекторе. Минеральный состав образцов определялся методом рентгеновской порошковой дифрактометрии.

Для участков рекультивации угольных отвалов определены средние концентрации и диапазоны значений валовых ТМ. В большинстве случаев концентрации элементов в техногенном элювии попадают в диапазон концентраций фоновых почвенных разрезов. Для образцов техногенного элювия определен минералогический состав и его преобразования в приповерхностных условиях. На всех участках фиксируется барит, причем как в исходной обломочной фракции, так в пылеватой. Установлено окисление пирита и образование гидрогетита. Геохимическим следствием добавки в субстрат органики в долгосрочной перспективе может явиться формирование более восстановительных условий в почвенных разрезах.

*Исследования поддержаны грантом РФФИ 19-29-05086 мк.*

Научный руководитель — канд. геол.-минер. наук А. Е. Богуславский

**Оценка влияния технологической автодороги на состояние  
снежного покрова Горловского антрацитового месторождения  
(Новосибирская область)**

Н. В. Усольцев

Новосибирский государственный университет

В работе представлены результаты полевых и лабораторных исследований состава снегового покрова в районе технологической автодороги Горловского антрацитового месторождения. Снег является информативным объектом для выявления техногенного загрязнения приземного слоя атмосферы. Отбор проб проводился в 2018–2020 гг. в период максимальных снегозапасов.

Для оценки воздействия были выбраны три участка: с наветренной стороны дороги — в юго-западном, с подветренной стороны — в северо-восточном направлении, а также с подветренной стороны, защищенной лесополосой. Исследования пространственной динамики содержания пыли в снегу показали, что шлейфы пылевых нагрузок имеют ориентацию согласно ветровому режиму для этой территории.

Максимальное количество взвешенных веществ обнаружено в 25 м лесополосы. На открытом участке с подветренной стороны на таком же расстоянии зафиксировано вдвое меньше пыли, поскольку значительная ее часть переносится на более удаленные расстояния. Минимальные накопления отмечены с наветренной стороны.

Состав снеговой пыли на участках, прилегающих к дороге, отличается значительным содержанием органических компонентов. В основном пыль представлена углем. Минеральная часть пыли состоит из тонкодисперсных обломков углесодержащих вскрышных пород.

В снеговом покрове концентрации практически всех элементов в растворенной и взвешенных частях превышают фоновые значения. Содержание полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в пыли, взятой с обочины дороги, может достигать 3 %. Перенос канцерогенных ПАУ распространяется более чем на 1000 м от дороги.

Научный руководитель — д-р биол. наук Д. А. Соколов

## Современное состояние зоопланктона высокогорных озер Алтая

Г. В. Феттер

Новосибирский государственный университет  
Институт водных и экологических проблем СО РАН, Новосибирск

Глобальное изменение климата, зафиксированное многими исследователями, и растущая потребность в водных ресурсах делают исследования по оценке преобразований в экосистемах озер под влиянием меняющихся внешних воздействий крайне актуальными. Горные озера, особенно расположенные на высоте 2000–3000 м над уровнем моря, не подвержены антропогенному воздействию из-за труднодоступности. Таяние многолетней мерзлоты, уменьшение площади ледников и внутrigодовое перераспределение осадков могут привести к значительным изменениям в экосистемах озер. Оценка количественных и качественных изменений гидробиологических сообществ высокогорных озер Алтая, в частности зоопланктона, важна для прогнозирования развития озерных экосистем при различных сценариях изменения климата.

В 2000 и 2018 г. на территории плато Укок изучено 10 озер. Отмечено, что в этот период на Алтае наблюдалась тенденция повышения температуры воздуха зимой и в переходные сезоны. С 2000 г. в тундростепи плато Укок наблюдается таяние вечной мерзлоты. Работы проводились в сезон максимального прогрева воды: конец июля — начало августа. Пробы зоопланктона отбирались путем фильтрования 100 л воды через сеть Апштейна (размер ячеи 65 мкм). Пробы отбирали в прибрежной зоне и в центре озер, фиксировали и обрабатывали стандартными методами.

В 2000 г. в озерах плато Укок было выявлено 37 видов зоопланктона. В большинстве озер по численности доминировали коловратки и ювенильные стадии веслоногих рачков, а по биомассе — ветвистоусые. В 2018 г. обнаружено 21 вид Rotifera, 13 — Cladocera, 17 — Copepoda. Из этого числа 19 видов не были ранее найдены в озерах плато Укок.

Статистический анализ подтвердил, что в озерах высокогорья определяющим фактором развития зоопланктона выступала температура воды, причем повышение температуры воды вызывало положительный отклик у коловраток и ветвистоусых рачков, тогда как доля веслоногих в общей численности и биомассе зоопланктона заметно снижалась.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. И. Ермолаева

**Жизненное состояние ячменя короткоостого  
(*Hordeum brevisubulatum* (Trin.) Link) в районах Центральной Якутии**

А. Г. Хабытчарова  
Северо-восточный федеральный университет  
им. М. К. Аммосова, Якутск

*Hordeum brevisubulatum* (Trin.) Link — сенокосный злак, обладающий многими питательными свойствами. Цель работы — оценка жизненного состояния ценопопуляций (ЦП) этого вида в аласных, пойменных и надпойменных лугах Центральной Якутии. Исследование проводилось в 2019–2020 гг. в Намском, Амгинском, Чурапчинском и Хангаласском районах Якутии. Всего изучено 29 ЦП вида: 14 ЦП — в аласных, 12 — в пойменных и 3 ЦП — в надпойменных лугах. В каждой ЦП у 30 среднегенеративных особей провели учет 32 организменных параметров: высота особи, число побегов разных типов, размеры листьев, показатели генеративного побега, структура соцветия и т. д.

У подавляющего большинства ЦП Чурапчинского района тип виталитета процветающей (80 %), остальные ЦП — депрессивные (20 %). В Хангаласском районе за счет высоких долей особей среднего (50–53 %) и высшего (20–40 %) классов виталитета 75 % ЦП являются процветающими. В то же время ЦП 13 проявила себя как депрессивная за счет преобладания особей низшего класса виталитета (53 %). В Намском районе 75 % аласных ЦП имеют процветающий тип виталитета и 25 % — равновесный. В пойменных ЦП процентные доли процветающих и депрессивных типов виталитета равны (по 50 %). Вместе с тем в процветающих типах пойменных ЦП преобладают особи высшего класса виталитета (43–90 %), тогда как в процветающих аласных ЦП более высок процент особей среднего класса (50–53 %). Поэтому можно утверждать, что в пойменных процветающих ЦП жизненное состояние выше, чем в аналогичных аласных ЦП. В Амгинском районе во всех ЦП характерно преобладание особей среднего класса (*b*) виталитета (36–43 %). Повышенная доля особей высшего класса (*a*) виталитета (26–30 %) определяет процветающий тип ЦП 27 и 29, а увеличение вклада особей низшего класса (*c* = 37 %) — депрессивный тип ЦП 28.

Таким образом, виталитетная структура ценопопуляций *Hordeum brevisubulatum* в Центральной Якутии относительно однородная. В большинстве случаев ценопопуляции процветающие с преобладанием особей среднего класса виталитета.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. В. Е. Кардашевская

**Исследование микроморфологии  
эвриалы устрашающей (*Euryale ferox* Salisb.) (Nymphaeaceae)**

Г. Г. Шарин

Тихоокеанский государственный университет, Хабаровск

Актуальность исследования связана с особым статусом вида как редкого гидрофита с ограниченным ареалом на территории российского Дальнего Востока. Микроморфологические исследования позволяют углубить общую характеристику вида, уточнить таксономическое положение и обозначить морфогенетические тенденции.

**Выявлено.** *Дорзовентральность* плавающих листьев. Коэффициент палисадности 1:1. *Листовая пластинка эпистоматного типа.* Эпидерма однослойная с прямыми антиклинальными стенками одинаковыми с обеих сторон листа. Основные клетки эпидермы хлорофиллоносные. Кутикулизация и суберинизация слабая. Число устьиц высокое ( $\sim 334 \pm 1$  экз./мм<sup>2</sup>). *Аномоцитный устьичный аппарат.* По размеру устьица крупные (длиной  $102 \pm 8$  мкм, шириной  $94 \pm 4$  мкм). *Наличие астросклеридов* в мезофилле листа, характерные для кувшинки и кубышки из нимфейных. *Опушенность.* Черешок с многоклеточными мягкими изогнутыми кроющими и головчатыми трихомами. Длинные и тонкие шипы, покрывающие листовую пластинку снизу и черешки, эпидермально-субэпидермального происхождения и лигнифицированные. *Общая аэренхиматизация.* Ткани листа и черешка пронизаны системой диффузных межклетников схизогенной этиологии (диаметром 120–160 мкм). Нетипичная для макрогидрофитов компактная (а не диффузная) локализация многослойной *субэпидермальной угловой колленхимы* в черешке. *Атактостелия.* Крупные пучки амфикрибрального (центроксилемного) типа. Мелкие пучки недоразвитые (флоэмные). *Редукция ксилемы.* Трахеальные элементы полностью редуцированы и заменены воздухоносными каналами.

Таким образом, вегетативные органы эвриалы устрашающей обладают спектром структурных адаптаций к условиям водной среды обитания. Наличие астросклеридов — таксономический признак нимфейных. Атактостелия и редукция камбия — признаки, свойственные классу однодольных.

Научный руководитель — д-р биол. наук, доц. Д. Ю. Цыренова

**Элементный состав желчи некоторых пресноводных видов рыб**

А. В. Шокурова

Новосибирский государственный аграрный университет

Пищеварение является одним из ключевых физиологических процессов для нормального развития и функционирования организма, успешность которого связана с эффективной работой элементов пищеварительной системы, в том числе желчи. Одной из ее характеристик является элементный состав, который способен оказывать влияние на активность ферментов и микробиоту кишечника. К сожалению, у рыб элементный состав желчи изучен фрагментарно. Поэтому целью данной работы стало определение элементного состава желчи некоторых видов рыб.

Для сравнения элементного состава желчи было отобрано 256 особей 14 различных видов рыб (*Carassius gibelio*, *C. carassius*, *Leuciscus idus*, *L. leuciscus*, *Sander lucioperca*, *Perca fluviatilis*, *Cyprinus carpio*, *Esox lucius*, *Rutilus rutilus*, *Abramis brama*, *Lota lota*, *Gymnocephalus cernua*, *Coregonus lavaretus pidschian*, *C. l. pravdinellus*), из трех водоемов (оз. Чаны, оз. Телецкое и оз. Байнот). Всего в ходе элементного анализа, проведенного с помощью эмиссионного спектрометра с индуктивно-связанной плазмой, было определено 28 химических элементов, из них шесть макроэлементов (Ca, K, Mg, Na, P, S) и 22 микроэлемента (Al, As, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, V, Zn).

Концентрация макроэлементов была наиболее высокой и среди всех видов рыб изменялась в следующих диапазонах: Na — от  $32344,4 \pm 612,7$  до  $57111,1$ ; S — от  $24420,1 \pm 1090,2$  до  $46279,6 \pm 844,6$ ; Ca — от  $1973,0 \pm 51,9$  до  $3397,5 \pm 287,7$ ; K — от  $1877,9 \pm 89,0$  до  $9678,1 \pm 2690,6$ ; Mg — от  $251,1 \pm 11,2$  до  $1001,0 \pm 164,3$ ; P — от  $51,0 \pm 25,3$  до  $3092,2 \pm 959,1$  мкг/кг сухой массы. Содержание микроэлементов в сравнении с макроэлементами характеризовалось большей вариабельностью значений. У большинства рыб в желчи отсутствовали Mo и Tl, а присутствие и концентрация того или иного элемента зависели от вида рыбы.

Такие внутри- и межвидовые различия в аккумуляции желчью элементов могут быть объяснены типом питания и положением организма в трофической цепи. Все это формирует специфический для каждого вида элементный состав желчи.

Руководитель — канд. биол. наук М. М. Соловьев

## Эколого-ценотическая структура флоры Отдельного парка

К. В. Эннс

Ленинградский государственный университет им. А. С. Пушкина

Всестороннее изучение региональных флор, включая парковые зоны, является неотъемлемой частью изучения и решения проблем сохранения биологического разнообразия. Цель нашего исследования заключалась в определении и анализе эколого-ценотической структуры флоры в пределах Отдельного парка.

Отдельный (Нижний, Колонистский) парк, заложенный в начале XIX в. и занимающий площадь около 100 га, расположен в городе Пушкине, к югу от Санкт-Петербурга на расстоянии 25 км от его центра. Парк ежедневно посещают сотни горожан и гостей города. Особенно высокая концентрация посетителей на аллеях и многочисленных экологических тропах отдыха. Такая рекреационная нагрузка и близость автомобильных и железной дорог негативно воздействует на все компоненты парковой среды, вызывая изменения видового и количественного состава флоры.

Исследования проводились маршрутным методом в течение 2020 г. В исследуемой нами флоре были выделены четыре эколого-ценотических группы: лесные, луговые, рудеральные, водные и прибрежно-водные растения. Ведущая роль принадлежала луговым растениям (59 видов, или 41 %), среди которых широко распространены *Geranium pratense* L., *Stellaria graminea* L., *Melampyrum nemorosum* L., *Lathyrus pratensis* L. и др. Рудеральные растения (*Cirsium arvense* (L.) Scop., *Melilotus officinalis* L., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. и др.) составляли 51 вид, или 35 %, что объясняется высокой антропогенной нагрузкой на парковую зону. Лесные виды были представлены 30 видами, или 21 % — *Betula pubescens* Ehrh., *Quercus robur* L., *Filipendula ulmaria* L. Maxim. и др. Из-за загрязнения сточными водами и нерегулируемого сброса воды из пруда водная и прибрежно-водная растительность сильно обеднена и представлена пятью видами (3 %).

Научный руководитель — д-р с.-х. наук, проф. О. Н. Курдюкова

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

УДК 616-006.484.04

## Стволовые опухолевые клетки глиобластомы — мишени онколитического действия вируса осповакцины?

А. Б. Агеенко

Новосибирский государственный университет

Глиобластома является одной из наиболее злокачественных опухолей центральной нервной системы. Плохой прогноз при данном заболевании обусловлен множеством факторов, в том числе наличием популяции стволовых опухолевых клеток (СОК), характеризующихся высоким инвазивным потенциалом, способностью к самовозобновлению и устойчивостью к традиционной противоопухолевой терапии. Целью данной работы является исследование чувствительности клеток immortalized и персонализированных культур глиобластомы человека к действию онколитического вируса VV-GMCSF-Lact и оценка представленности маркеров СОК в исследуемых культурах клеток.

При оценке цитотоксической активности VV-GMCSF-Lact в отношении клеток immortalized (U87 MG и U343 MG) и персонализированных (BR1.20 и BR3.20) культур глиобластомы человека показано, что клетки культур U343 MG и BR1.20 обладают наиболее высокой чувствительностью к действию вируса. Клетки культуры U87 MG были наиболее устойчивы к действию VV-GMCSF-Lact. Методом проточной цитометрии в культуре клеток BR1.20 обнаружено наибольшее количество CD133+ клеток (16,3 %) по сравнению с другими исследуемыми культурами. При этом данный маркер не детектировался в клетках культуры U87 MG. Кроме того, клетки культур BR1.20 и U343 MG, наиболее чувствительных к действию вируса, несут такие маркеры СОК, как CD171 (28 % клеток BR1.20) и CD15 (50,7 % клеток U343 MG). Экспрессия генов *SOX2* и *Мус* в клетках U343MG была значительно выше, чем в клетках U87MG, как и уровень белков, кодируемых исследуемыми генами. В клетках персонализированных культур уровень с-Мус значительно не отличался, при этом экспрессия *SOX2* в данных клетках не наблюдалась.

Полученные данные позволяют предположить, что величина популяции клеток, несущих маркеры СОК, может определять чувствительность культур клеток глиобластомы к действию онколитического вируса.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Кулигина

**Анализ контекстов, внутри которых происходит расщепление ДНК  
по AP-сайту рибосомным белком uS3 человека**

Г. Д. Арбузов

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Рибосомные белки семейства uS3 эукариот имеют многочисленные неканонические функции, связанные с их взаимодействиями с ДНК, в частности все они проявляют свойства различных ферментов репарации ДНК. Общим свойством всех белков данного семейства является их способность расщеплять ДНК по апурин/апиримидиновому (AP)-сайту. Недавно были определены участки связывания белка uS3 на хроматине, но осталось неизвестным, в каких участках ДНК белок расщепляет ее по AP-сайтам. Для выяснения критериев, по которым uS3 выбирает последовательности ДНК, внутри которых он расщепляет ДНК предпочтительно, мы получили модельную одноцепочечную кольцевую ДНК, содержащую AP-сайт, окруженный с 3'- и с 5'-сторон последовательностями из трех случайных нуклеотидов («рандомизованные» последовательности). Эта ДНК была расщеплена по AP-сайту рекомбинантным белком uS3 человека в условиях небольшой глубины реакции, и таким образом была получена линейная одноцепочечная ДНК с теми тринуклеотидными последовательностями на 3'- и на 5'-концах, внутри которых белок расщепляет ДНК по AP-сайту предпочтительно. Эту ДНК выделили, очистили и передали в ЦКП «Геномика» СО РАН, где она была использована для приготовления библиотеки кДНК и ее последующего глубокого секвенирования. Анализ результатов секвенирования позволил выявить консенсусные последовательности ДНК, внутри которых расщепление по AP-сайту происходило наиболее и наименее предпочтительно. Для верификации полученных результатов были получены две модельные 63-мерные ДНК, в которых AP-сайт находился в контексте триплетов, соответствующих наиболее и наименее эффективному расщеплению по данным секвенирования. Сравнительный анализ эффективности расщепления этих модельных ДНК белком uS3 подтвердил выводы, сделанные на основании данных глубокого секвенирования.

Научный руководитель — д-р хим. наук, доц. Д. М. Грайфер

## Влияние полиморфизма С1473G (Р447R) на характеристики ТПГ2 в мозге мышей

А. Б. Арефьева

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Триптофангидроксилаза 2 катализирует превращение триптофана в 5-гидрокситриптофан — первую стадию синтеза 5-НТ — и является специфическим и лимитирующим ферментом синтеза серотонина в мозге.

Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о связи мутаций в гене ТПГ2 человека с биполярным расстройством, суицидальным поведением, синдромом дефицита внимания и гиперактивности, аутизмом и обсессивно-компульсивным расстройством. В настоящее время молекулярные механизмы снижения активности ТПГ2, вызванного данными мутациями, неизвестны.

Полиморфизм С1473G в 11 экзоне гена *mTph2* мыши приводит к замене Р447R в каталитическом домене молекулы ТПГ2 и снижает активность фермента в мозге мыши как *in vitro*, так и *in vivo*. Этот полиморфизм является удобной моделью изучения молекулярных механизмов, вызванных мутациями нарушений функции фермента.

Целью работы является изучение влияния мутации Р447R на кинетические характеристики и температурную стабильность ТПГ2. Сравнение характеристик ТПГ2 из среднего мозга мышей С57BL/6 (С/С) и Balb/c (G/G) проводили с помощью разработанного нами высокочувствительного флуориметрического микрометода.

Было показано, что аллель G слабо влияет на величину  $K_m$ , отражающую сродство фермента к природному кофактору — тетрагидриобиптерину ( $BH_4$ ), но при этом вдвое снижает максимальную активность ( $V_{max}$ ) ТПГ2. Более того, аллель G существенно снижает температурную стабильность ТПГ2.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что наиболее вероятной причиной вызванного полиморфизмом С1473G снижения активности ТПГ2 является нарушение устойчивости активного центра фермента.

*Исследование поддержано проектом  
базового финансирования № 0324-2019-0041.*

Научный руководитель — д-р биол. наук А. В. Куликов

## Экспрессия Pgp, JAM-A, ZO-1 и CLDN5 при стрессе раннего периода жизни у крыс

А. С. Артемьева

Красноярский государственный медицинский университет  
им. профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого

В последнее время, несмотря на тенденцию к небольшому снижению, все же широко распространен стресс раннего периода жизни (СРПЖ) у детей во всех странах, что опасно развитием патологии нервной системы в будущем. Недостаточная изученность молекулярных механизмов этих нарушений и данные о том, что нарушения ангиогенеза и работы гематоэнцефалического барьера могут быть связаны с нарушениями белков плотных контактов и транспортерами для различных молекул обуславливают актуальность темы исследования [1, 2].

Цель исследования — оценка экспрессии молекул-маркеров эндотелия при СРПЖ и в физиологических условиях у животных. Объектом исследования являлись фиксированные образцы головного мозга крысят линии Wistar обоих полов возрастом 28 дней со стандартной моделью СРПЖ ( $n = 7$ ) и от интактных животных ( $n = 7$ ). Проводили нарезку срезов на вибротоме, окрашивали их по стандартному протоколу «свободно-плавающих срезов» фирмы Abscam, микроскопировали на флуоресцентном микроскопе ZOE™, с помощью программы ImageJ рассчитывали площадь экспрессии антигенов в пикселях. Статистический анализ проводили с использованием методов непараметрической статистики.

У крыс, перенесших СРПЖ, обнаружено значимое однонаправленное снижение площади экспрессии Pgp в энторинальной коре ( $p < 0,001$ ); (контроль 990 000; СРПЖ 400 000) и миндалине головного мозга ( $p < 0,001$ ) (контроль 780 000; СРПЖ 380 000). У экспериментальных животных в базолатеральной миндалине наблюдалось значимое увеличение площади экспрессии JAM-A ( $p < 0,001$ ) (контроль 500 000; СРПЖ 990 000). В отношении экспрессии CLDN5 и ZO-1 во всех изученных структурах головного мозга не было обнаружено значимых различий.

Таким образом, для животных, перенесших СРПЖ, характерно снижение экспрессии Pgp в энторинальной коре и базолатеральной миндалине головного мозга и увеличение экспрессии JAM-A в базолатеральной миндалине, что свидетельствует о более высокой чувствительности и/или пластичности миндалины головного мозга при действии стрессорных факторов, что согласуется с литературными данными об изменениях в миндалине у людей, подвергшихся очень выраженному или хроническому стрессу.

---

1. Малиновская Н. А. и др. Стресс раннего периода жизни: последствия для развития головного мозга // Журнал ВНД. им. И. П. Павлова. 2016. Т. 66. № 6. С. 663–668.

2. Tornavaca O. et al. ZO-1 controls endothelial adherens junctions, cell-cell tension, angiogenesis, and barrier formation // J. Cell Biol. 2015. Vol. 208(6). P. 821–838.

Научный руководитель — д-р мед. наук Н. А. Малиновская

**Детектирование маркеров устойчивости к *Pyrenophora teres f. teres* в геноме ячменя с использованием ДНК-сенсоров**

М. М. Ахметова  
Университет ИТМО, Санкт-Петербург

Было показано, что определенные комбинации однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) увеличивают устойчивость ячменя к поражению *Pyrenophora teres f. teres*. Мы рассматриваем возможность массового скрининга с использованием ДНК-сенсоров для генотипирования. Такой подход уменьшит использование белковых компонентов, что сделает метод более доступным рядовому пользователю.

Мы можем создать ДНК-машины с двумя вариантами финального сигнала. В первом случае реакционный центр при объединении образует аптамер для гемина, G-квадруплекс [1]. Геминный комплекс катализирует реакцию окисления субстрата, в нашем случае 3,3'-диаминобензидин, что приводит к окрашиванию раствора. Во втором случае при использовании дезоксирибозимного каталитического ядра возможна генерация флуоресцентного сигнала [2]. Такая ДНК-машина содержит разделенное двухчастное ядро, которое, связываясь одновременно с аналитом и репортерным субстратом, вызывает расщепление последнего, освобождая флуорофор от действия тушителя. Также в ее составе есть олигонуклеотиды, необходимые для стабилизации и расплетения вторичной структуры аналита.

Хороший сенсор при аллелетипировании должен позволять различать три случая: aa, Aa, AA. В данной работе было показано, что сенсоры на основе G-квадруплекса не обладают необходимой разрешающей способностью для определения гетерозигот. Напротив, ДНК-машины являются перспективным инструментом для создания тест-систем и обладают требуемой селективностью.

---

1. Kolpashchikov D. M. Split DNA enzyme for visual single nucleotide polymorphism typing // JACS. 2008. Vol. 130(10). P. 2934–2935.

2. Mokany E. et al. MNAAzymes, a Versatile New Class of Nucleic Acid Enzymes That Can Function as Biosensors and Molecular Switches // JACS. 2010. Vol. 132(3). P. 1051–1059.

Научный руководитель — канд. хим. наук, проф. Д. М. Колпашиков

## Изучение влияния N-концевых последовательностей на транспорт и фолдинг химозина лося

Е. А. Белаш

Алтайский государственный университет, Барнаул

Химозин (ЕС 3.4.23.4.) — представитель группы пепсиноподобных аспаратных эндопептидаз. Этот фермент используется как основной агент коагуляции молока. Химозин коровы, эталонный фермент в сыроделии, обладает высокой молокосвертывающей активностью при низкой общей протеолитической активности. Методами генной инженерии можно получить рекомбинантный аналог химозина не только коровы, но и любого другого млекопитающего. Не исключено, что новые ферменты будут обладать рядом свойств, ценных для сыроделия. При получении рекомбинантного химозина в системе *E. coli* сталкиваются с рядом проблем, основной из которых является накопление прохимозина в виде телец включения в клетках. Для получения активного фермента требуется сложная процедура рефолдинга. В связи с этим целью работы была разработка вариантов прохимозина лося, содержащих N-концевые довески, и анализ их влияния на транспорт и фолдинг.

В работе был проведен дизайн рекомбинантных плазмид, содержащих ген прохимозина лося в единой рамке считывания с различными N-концевыми довесками. В качестве N-концевых довесков были выбраны гены, кодирующие белки дисульфидного обмена *E. coli*, DsbA, DsbC и DsbG. Ген прохимозина лося был синтезирован на заказ в составе вектора pET21. Для получения плазмид pET21-DA-Mos, pET21-DG-Mos и pET21-DC-Mos последовательности генов DsbA, DsbC и DsbG амплифицировали и клонировали в составе вектора pET21-Mos таким образом, чтобы ген прохимозина оказался в единой рамке считывания с генами DsbA, DsbC и DsbG. Полученными рекомбинантными плазмидами трансформировали *E. coli* штамм BL21. Анализ накопления целевого белка, а также молокосвертывающую активность полученных препаратов анализировали после индукции синтеза белка добавлением IPTG.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-44-220010 p\_a.*

Научный руководитель — Д. В. Балабова

## Исследование противоопухолевых эффектов холодной плазмы

М. М. Бирюков, Е. А. Патракова  
Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Холодная плазма — перспективный подход для разработки противоопухолевой терапии, эффективность которого в подавлении жизнеспособности раковых клеток показана как *in vitro*, так и в ряде экспериментов *in vivo*. Селективное воздействие холодной плазмы на онкотрансформированные клетки обуславливается их преимущественной чувствительностью к окислительному стрессу, вызванному активными формами кислорода и азота, генерируемыми ХПС. Несмотря на активные исследования биологических эффектов плазмы, молекулярные механизмы клеточной гибели остаются слабоизученными.

Целью данной работы является исследование природы гибели клеток, облученных холодной плазмой.

В работе для генерации холодной плазменной струи (ХПС) применяли установку, разработанную коллективом сотрудников ИФП и ИТПМ СО РАН. Цитотоксическую и противоопухолевую активность ХПС изучали на культурах клеток аденокарциномы легкого человека А-549, фибробластов легкого человека Wi-38, рабдомиосаркомы мышцы МХ-7. Облучение проводили струей плазмы в гелии при скорости газа 12 л/мин и напряжении 4,9 кВ.

Облучение онкотрансформированных клеток ХПС приводило к дозозависимому повышению концентраций внутриклеточных активных форм кислорода и азота, увеличивалась доля клеток в состоянии апоптоза и некроза. Кроме того, ХПС активировала молекулярные маркеры, характерные для иммуногенной клеточной гибели: транслокацию калретикулина и белка теплового шока массой 70 кДа на внешний слой плазматической мембраны, а также выход во внеклеточное пространство ядерного белка HMGBl. Таким образом, обнаружены молекулярные мишени для дальнейшего изучения биологических эффектов холодной плазмы.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-19-00255.*

Научный руководитель — канд. биол. наук О. А. Коваль

## Анализ критических аминокислотных остатков в активном центре формаидопиримидин-ДНК-гликозилазы

Н. А. Булгаков

Новосибирский государственный университет

Институт химической биологии

и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Несмотря на то что кислород — один из важнейших компонентов для производства энергии живой клеткой, он остается опасным для организма из-за высокого риска повреждения ДНК его реакционноспособными производными. Для предотвращения нежелательных последствий повреждения генома в клетках существует система эксцизионной репарации оснований ДНК (ЭРО). ДНК-гликозилазы — ферменты, которые осуществляют первый шаг процесса ЭРО — находят и удаляют поврежденные основания путем гидролиза их *N*-гликозидной связи. Некоторые ДНК-гликозилазы способны помимо гидролиза *N*-гликозидной связи вносить разрыв в ДНК по механизму  $\beta$ -элиминирования.

Среди ДНК-гликозилаз бактериальной клетки формаидопиримидин-ДНК-гликозилаза (Fpg) отвечает за репарацию окисленных оснований пуринового ряда, в частности, самого распространенного окислительного повреждения — 8-оксогуанина (8-охоGua). Ключевую роль в катализе этого процесса играют два высококонсервативных аминокислотных остатка (а. о.): Pro1 и Glu2, и несколько других консервативных остатков, образующих контакты с обрамляющими повреждение фосфатами ДНК. В центре узнавания поврежденного основания находится петля из 4 а. о., которая координирует атом O<sup>6</sup> 8-охоGua амидными группами своих пептидных связей и предположительно участвует в стабилизации расщепляемых нуклеотидов в каталитически компетентной конформации.

Цель работы заключается в изучении роли критических остатков активного центра Fpg из *Lactococcus lactis*. Были выделены и охарактеризованы варианты Fpg с заменами остатков центра узнавания и каталитического центра. Были определены их кинетические параметры на апуринизированном субстрате, субстрате, содержащем окисленный пурин (8-охоGua) или окисленный пиримидин (гидроксиурацил). Было показано, что мутации в центре узнавания поврежденного основания не оказывают существенного влияния на общую эффективность катализа при отсутствии основания, но значительно влияют на стадию узнавания ферментом поврежденного основания пуринового ряда.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. В. Юдкина

**Поиск пептидов, специфически связывающихся  
с корегуляторной мишенью В7-2**

О. Е. Викторина, Е. А. Колосова,  
А. И. Шаповал, Д. Н. Щербаков  
Алтайский государственный университет, Барнаул  
Государственный научный центр  
вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово

В7 — важная костимулирующая молекула, которая экспрессируется на поверхности антигенпрезентирующих клеток (АПК). Обнаружены две формы этой молекулы: В7-1 и В7-2. Рецепторами В7 лигандов на поверхности Т-клеток являются CD28/CTLA-4. Взаимодействие В7-1 или В7-2 с CD28 способствует активации Т-клеток, пролиферации и секреции цитокинов. Взаимодействие В7-1 или В7-2 с CTLA-4 снижает активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов [1]. Блокада костимуляторных путей регуляции иммунного ответа может обеспечить эффективную терапию аутоиммунных заболеваний и отторжение трансплантатов. В качестве основы для разработки средств терапии мы предлагаем использовать пептиды, характеризующиеся высокой специфичностью взаимодействия с мишенью и низкой молекулярной массой, что может снижать уровень побочных эффектов [2].

Фаговые пептидные библиотеки являются одним из источников получения пептидов, которые способны избирательно взаимодействовать с белками, липидами, углеводами [3].

В настоящее время, используя фаговые пептидные библиотеки, мы выявили пептиды, которые обладают высокой аффинностью взаимодействия с молекулой В7-2. Выявленные пептиды являются основой для разработки средств, регулирующих иммунный ответ, а также создания эффективных лекарственных препаратов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-44-220008), государственного задания Минобрнауки Российской Федерации (№ FZMW-2020-0007).*

---

1. Шаповал А. И., Шаповал С. П., Щербакова Н. С., Щербаков Д. Н. Молекулы контроля иммунитета семейства В7. Ч. 2. Представители семейства В7: В7-Н3, В7-Н4, В7-Н5, В7-Н6, В7-Н7 и ILDR2 и их рецепторы // Биоорганическая химия. 2019. Т. 45. № 5. С. 472–487.

2. Titov M. I. Medical preparations based on synthetic peptides // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2013. № 4. С. 86–102.

3. Патент РФ № 2702087. Новые способы дисплея циклических пептидов на частицах бактериофага: № 2017122176: заявл. 21.12.2015: опубл. 03.10.2019 / Урбан И. Г., Мосмайер М. А., Босма Т., Прасслер Й.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. Н. Щербаков

## Свето-индуцируемая релокализация белков

Г. А. Волегов, Д. М. Моторина

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Живые клетки представляют собой совокупность высокоструктурированных компартментов, в которых активность белков может контролироваться путем изменения концентрации интересующего белка в данном локальном окружении. Релокализация может быть достигнута за счет белок-белковых взаимодействий. В настоящее время известно множество свето-индуцируемых белок-белковых взаимодействий и разработанных на их основе оптогенетических систем. Преимуществом использования оптогенетических систем является то, что воздействие светом может быть сфокусировано на определенном небольшом участке, позволяет строго контролировать «дозировку» и продолжительность воздействия светом.

Данная работа посвящена разработке и тестированию на культивируемых клетках дрозофилы S2 оптогенетического инструмента на основе белков VphP1 и QPAS1, образующих гетеродимеры при облучении ближним инфракрасным светом (740-780 нм). Данная система позволяет управлять локализацией белка QPAS1 в клетке в двух различных компартментах — в цитоплазме и на мембране. При облучении ближним инфракрасным светом белок QPAS1 направляется на мембрану, где располагается VphP1. При релаксации в темноте QPAS1 возвращается в цитоплазму. Присоединение к QPAS1 последовательности нанотел к GFP позволит с помощью света управлять локализацией в клетке любого белка, сшитого с EGFP.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-74-00137.*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. С. Омелина

**Комбинированная терапия меланомы В-16 с помощью дендритных клеток и онколитического вируса осповакцины**

Т. А. Гамбург

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

В настоящее время разрабатывается целый ряд методов лечения опухолевых заболеваний на основе дендритных клеток (ДК) и онколитических вирусов, однако клиническая эффективность монотерапии опухолей на сегодняшний день остается на достаточно низком уровне. Комбинированная терапия с помощью онколитических вирусов и ДК, активированных против опухолевых и вирусных антигенов, может стать более эффективным способом терапии за счет таргетной активации цитотоксических Т-лимфоцитов, специфичных против опухолевых клеток, инфицированных вирусом.

При оценке эффективности активации цитотоксических Т-лимфоцитов *in vitro* нами было показано, что введение мышам ДК, активированных лизатом клеток меланомы В-16 и вирусом осповакцины LIVP/GFP, эффективно индуцирует выработку цитотоксических Т-лимфоцитов как против инфицированных клеток, так и против неинфицированных клеток меланомы В-16. На основании результатов экспериментов *in vitro* для терапии меланомы В-16 был выбран именно такой способ активации ДК. В комбинированной терапии меланомы В-16 мы использовали две схемы: 1) одновременное введение ДК и вируса LIVP/GFP на 8-е сутки после имплантации опухоли и 2) введение ДК на 8-е сутки, а вируса на 10-е сутки после имплантации опухоли. Мы показали, что одновременное введение вируса и ДК не влияет на рост опухоли, в то время как последовательное введение сначала ДК, а затем вируса привело к значительному торможению роста опухоли по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, мы показали, что схема проведения терапии значительно влияет на эффективность лечения опухолевых заболеваний с использованием дендритных клеток и онколитических вирусов.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. П. Гончарова

**Выделение тотальной РНК из *Phytophthora infestans* и амплификация фрагментов генов INF1 и INF4 для разработки фунгицидного препарата**

А. А. Иванов, Е. О. Укладов  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Одним из важнейших этапов выделения РНК является измельчение образца для разрушения клеточной стенки без его механического нагревания. В данной работе мы экспериментально подобрали оптимальный протокол измельчения образца и выделения РНК из фитотторы.

Измельчение фитотторы проводилось стальными шариками на приборе Tissue Lyzer, выделение РНК — тремя различными наборами: Biolabmix, Plant Mini Kit, RNeasy Power Plant Kit. Для оценки качества выделенной РНК использовался показатель RNA integrity number (RIN). Определение качества производилось в ЦКП «Геномика» ИХБФМ СО РАН.

Лучший результат RIN 7.1 был достигнут при использовании RNeasy Plant mini kit и измельчении замороженной в жидком азоте фитотторы в течении 15 с. Увеличение времени дробления привело к падению качества. Измельчение в тризоле приводило к полной деградации РНК независимо от режима измельчения. Попытка защитить РНК от деградации при измельчении лизирующим буфером с добавлением β-меркаптоэтанола также оказалась неэффективной.

С помощью онлайн-ресурсов (NCBI, Primer blast NCBI и Oligo-Analyzer Tool) нами было подобрано по два комплекта праймеров для двух генов *P. infestans* INF1 и INF4, кодирующих элиситин INF1 и элиситин-подобный белок INF4 соответственно. Данные белки модулируют активацию запрограммированной гибели клеток, связанной с защитой растения-хозяина, тем самым вызывая некроз листьев.

Проведена обратная ПЦР с синтезом кДНК по наиболее качественным образцам тотальной РНК.

В дальнейшем планируется вставка в плазмиду и трансформация *E. coli* с нокаутированными РНКазами для наработки большого количества РНК INF1 и INF4. Препаратом РНК предполагается обработка фитотторы с целью уменьшения ее патогенности против картофеля *Solanum tuberosum*.

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. С. Голубева

## Оптимизация паттерна химических модификаций и структуры малых интерферирующих РНК

У. А. Карелина

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Разработка терапевтических препаратов на основе малых интерферирующих РНК (siРНК) является перспективным направлением в области генной терапии. Важной терапевтической мишенью для siРНК является ген *MDR1*, поскольку его гиперэкспрессия вызывает синдром множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) у опухолей.

На первом этапе в данной работе было изучено влияние паттерна химических модификаций siРНК в составе холестеринового конъюгата на накопление в клетках и эффективность подавления экспрессии гена-мишени. Показано, что при доставке в клетки KB-8-5-MDR1-GFP без носителя холестериновый конъюгат полностью модифицированной siРНК (Ch5'-siDm\_FM), содержащей 2'F и 2'O-Me модификации, в два раза более активен, чем холестериновый конъюгат селективно модифицированной siРНК (Ch5'-siDm), содержащей 2'O-Me модификации в нуклеозочувствительных сайтах. Показано в 1,4 раза более эффективное накопление Ch5'-siDm\_FM в клетках KB-8-5 по сравнению с Ch5'-siDm.

На втором этапе данной работы на основе этого паттерна были сконструированы холестериновые конъюгаты супрамолекулярных siРНК (Ch5'-ctsiРНК) с различной молекулярной массой и исследованы их свойства. Показано, что при доставке в клетки без носителя увеличение молекулярной массы дуплекса снижает эффективность накопления в клетках и ее интерферирующие свойства. Наиболее активным среди исследуемых Ch5'-ctsiРНК был дуплекс, состоящий из трех молекул антисмысловой цепи и двух полуторных смысловых цепей — Ch5'-ctsiDm\_FM. *In vivo* было показано, что Ch5'-ctsiDm\_FM эффективно накапливается в опухоли и печени. Поэтому предполагается, что высокий уровень накопления этого конъюгата может обеспечить его высокую биологическую активность *in vivo*.

Таким образом, на основе нового паттерна химических модификаций и оптимизированной структуры siРНК представляется возможным создание терапевтических средств против МЛУ.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 19-14-00251.*

Научный руководитель — канд. биол. наук И. В. Черников

**Регуляция устойчивости растений *Brassica napus*  
к хлоридному засолению 24-эпибрассинолидом**

Л. В. Коломейчук  
Томский государственный университет

Интенсивное техногенное загрязнение окружающей среды привело к серьезному обострению экологической ситуации в мире, в том числе к расширению засоленных территорий. Повышенное содержание солей в почве или поливной воде оказывает губительное влияние на растения, приводящее к снижению их продуктивности и пищевой ценности. Решением в сложившейся ситуации может служить использование природных и эффективных регуляторов устойчивости растений, таких как брассиностероиды.

Исследования проводили на растениях *Brassica napus*: 7-суточные проростки рапса из перлита переносили на жидкую питательную среду Хогланда — Снайдерса (ХС). После двухнедельного выращивания на гидропонной установке часть растений переносили на 4 ч на ту же самую среду с добавлением 24-эпибрассинолида (ЭБЛ) в концентрациях  $10^{-10}$  и  $10^{-8}$  М в отсутствие (контрольный вариант) или присутствии 150 мМ NaCl (опытные варианты). Устойчивость растений к действию соли оценивали по ростовым и физиологическим параметрам растений после 7 суток солевого воздействия.

Хлоридное засоление способствовало снижению роста растений на 10–30 %, падению содержания фотосинтетических пигментов на 20–40 % и повышению уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) в листьях на 30 % относительно контроля, что подтверждает развитие окислительного стресса в растениях рапса. Добавление в среду ЭБЛ в концентрации  $10^{-8}$  М полностью нивелировало негативное действие соли в отношении содержания пигментов и уровня ПОЛ. В свою очередь, обработка растений ЭБЛ в концентрации  $10^{-10}$  частично снимала снижение ростовых параметров растений рапса в условиях солевого стресса. Возможным механизмом реализации защитного эффекта ЭБЛ в концентрации  $10^{-8}$  М служило повышение содержания каротиноидов в листьях.

*Исследования поддержаны грантом РФФИ № 19-34-90093-Аспиранты.*

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. М. В. Ефимова

## Разработка таргетной NGS-панели для диагностики инфекций дыхательных путей

М. А. Корюков

Новосибирский государственный университет

Острые респираторные инфекции являются одной из основных причин смертности во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения респираторные инфекции занимают первое место в рейтинге болезней, измеряемом потерянными годами в результате смерти или инвалидности. В свою очередь, инфекции нижних дыхательных путей являются третьей по значимости причиной смертности в развитых странах, а в слаборазвитых занимают лидирующую позицию. В настоящее время выявлено более 200 вирусов и десятков бактерий, вызывающих респираторные заболевания. В связи с этим многие традиционные способы выявления патогенов, например, иммуноферментный анализ и культивирование, уже не так актуальны в силу малой чувствительности и высокой трудоемкости. При этом недоступность точных молекулярных тест-систем может привести к назначению неэффективного лечения. Следовательно, актуальным направлением молекулярной биологии является создание высокочувствительных тест-систем, которые будут способны за более короткий срок установить этиологию заболевания, что позволит определить, требуется специфическое лечение или нет. Одним из наиболее актуальных является таргетное массовое параллельное секвенирование.

Целью данной работы является разработка NGS-панели для диагностики инфекций дыхательных путей в образцах назальных мазков людей, имеющих проявления респираторных инфекций.

На основании данных литературы было выбрано 10 бактерий и 39 групп вирусов и для каждой из них было отобрано по 2 наиболее консервативных участка генома. С помощью программы NGS-PrimerPlex было сконструировано 114 пар праймеров. Затем была проведена оценка их теоретической чувствительности, чтобы проверить, насколько эффективно они будут работать. При этом средняя чувствительность системы составила 96,7%. Было проведено 2 запуска секвенирования на платформе *Illumina MiniSeq* для оценки покрытия целевых регионов. Для обработки полученных данных была создана база данных по респираторным инфекциям для программы *Qiime2*.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. А. Кечин

**Анализ микробиома желудочно-кишечного тракта хомяков  
при инфекции трематодами *Opisthorchis viverrini*,  
*Opisthorchis felineus* и *Clonorchis sinensis***

Е. А. Лишай

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Новосибирский государственный университет

Трематоды *Opisthorchis viverrini*, *Opisthorchis felineus* и *Clonorchis sinensis* — паразиты гепатобилиарной системы млекопитающих, в том числе человека. Они отличаются ареалом обитания, фенотипом, генотипом и канцерогенным потенциалом. Два вида *O. viverrini*, *C. sinensis* (но не *O. felineus*) признаны биологическими канцерогенами для человека. Существует гипотеза, что разница в канцерогенном потенциале трематод обусловлена изменением таксономического состава совокупности микроорганизмов у инфицированного хозяина. Ранее исследований микробиома животных с описторхозом в условиях SPF-вивария (свободного от специфических патогенов) проведено не было.

Для проведения исследования золотистые хомячки SPF-вивария были заражены метациркариями, собранными из разных регионов *C. sinensis* (Южная Корея), *O. viverrini* (Таиланд) и *O. felineus* (Новосибирск). Были получены 44 библиотеки, содержащие V3-V4 район гена 16S рРНК бактерий из образцов фекалий, желчи контрольных и инфицированных хомяков, а также из взрослых особей трех видов червей. Секвенирование полученных библиотек проводили на платформе MiSeq Illumina методом парных прочтений  $2 \times 300$  оснований. Обработка данных производилась с использованием программы QIIME2.

В результате 1 784 000 чтений были отнесены к 13 244 оперативным таксономическим единицам (OTU) и, в свою очередь, к 273 родам бактерий. Показано, что при инфицировании происходит увеличение биологического разнообразия в микробиомных сообществах фекалий лабораторных животных. Изменение состава микробиома печени и фекалий происходит различно. Найдены специфические для микробиома червей 137 OTUs бактерий.

*Работа поддержана грантом РФФИ (№20-04-00370\_А).*

Научный руководитель — д-р биол. наук М. Ю. Пахарукова

**Конструирование плазмиды, содержащей ген химерной полимеразы**

Р. Д. Маслов

Алтайский государственный университет, Барнаул

Термостабильные ДНК-полимеразы — одна из наиболее востребованных групп ферментов в генно-инженерных и молекулярно-биологических исследованиях. В настоящее время на рынке представлен широкий спектр термостабильных ДНК-полимераз. Благодаря изучению большого спектра природных полимераз, а также достижениям инженерной энзимологии часть свойств этих ферментов удалось улучшить. Так, удалось значительно повысить процессивность и точность ДНК-полимераз. Одним из способов рационального дизайна ферментов является включение в их состав доменов других белков, обладающих желаемыми свойствами. В случае полимераз таким доменом может выступать белок Sso7d *Sulfolobus solfataricus*, способный неспецифически взаимодействовать с двухцепочечной ДНК. Целью работы было конструирование плазмиды, содержащей ген химерной полимеразы.

В работе для конструирования химерного варианта полимеразы за основу было решено взять ген термостабильной полимеразы Pfu (*Pyrococcus furiosus*), а в качестве дополнительного элемента — Sso7d *Sulfolobus solfataricus*, представляющий собой небольшой белок (7 кДа). Отдельные элементы в конструкции были расположены в следующем порядке: N-концевая часть белка, сигнальная последовательность нуклеазы, далее полимеразный домен Pfu и домен Sso7d. В C-концевую часть было решено включить 6×His таг для обеспечения возможности аффинной хроматографической очистки.

Для амплификации нуклеотидных последовательностей полимеразы Pfu и Sso7d рассчитывали олигонуклеотидные праймеры. В состав прямого праймера для амплификации Pfu была включена последовательность, кодирующая сигнальную последовательность нуклеазы. В то время как в обратный праймер для амплификации Sso7d включена последовательность, кодирующая 6×His. После ПЦР-амплификации продукты очищали и проводили отжиг с повторной амплификацией. Полученный продукт лигировали в составе вектора pET21a по сайтам FauNDI и CciNI. Таким образом был получен плазмидный вектор pET21-Z52, содержащий ген химерной полимеразы.

Научный руководитель — Д. В. Балабова

**Оптимизация работы системы CRISPR/Cas9 для изучения роли *LMNB1* в репликативном старении**

Е. Е. Морозова

Новосибирский государственный университет

Старение организма выражается в неуклонном ухудшении его функционального состояния. Этот процесс неразрывно связан с клеточным старением — необратимой остановкой клеточного цикла. В ходе старения клетки демонстрируют характерные морфологические и метаболические изменения. К ним относятся изменения паттерна экспрессии генов, активация генов супрессоров-опухолей и секреция провоспалительных агентов, объединенных понятием секреторного фенотипа, ассоциированного со старением. Клеточное старение сопровождается масштабными пространственными перестройками ядра, приводящими к формированию специальных ядерных структур конденсированного хроматина (SAHF) и ассоциированной со старением деконденсацией центромер (SADS). Снижение уровня компонента ядерной оболочки ламина В1 приводит к нарушению структуры хроматина и, как предполагается, участвует в механизме формирования SAHF и SADS. Ламины взаимодействуют с многочисленными транскрипционными факторами, которые влияют на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток. В настоящее время всесторонне исследуется процесс клеточного старения и механизмы его регуляции. Одним из недостаточно исследованных аспектов данных процессов является роль ламина В1.

Метод направленного мутагенеза CRISPR/Cas9 на текущий момент является наиболее простым и эффективным методом внесения геномных модификаций. В данной работе была проведена оптимизация условий целевого мутагенеза методом CRISPR/Cas9 для удаления кодирующей области гена *LMNB1* и замены на репортерный ген в культуре первичных фибробластов человека. В результате проделанной работы получены генетические конструкции, кодирующие различные направляющие РНК для получения делеции гена *LMNB1* с помощью CRISPR/Cas9. Была получена гетерогенная популяция клеток первичных фибробластов человека, несущих делецию гена *LMNB1*.

Научный руководитель — канд. биол. наук П. П. Лактионов

**Оптимизация оптогенетической системы VrhP1-QPAS1,  
контролируемой ближним инфракрасным светом**

Д. М. Моторина, Г. А. Вологов

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Разработка оптогенетических систем является одной из важнейших задач современной биологии, так как использование оптогенетических инструментов обладает рядом преимуществ над применением химических регуляторов: высокая скорость активации, неинвазивность, обратимость, возможность точной пространственно-временной регуляции и отсутствие побочных токсических эффектов. В совокупности эти факторы открывают широкие возможности использования оптогенетических инструментов в фундаментальных исследованиях и медицине.

В данной работе оптогенетическая система VrhP1-QPAS1, контролируемая ближним инфракрасным светом (740-780 нм), была впервые применена на культивируемых клетках дрозофилы S2. Регуляция экспрессии экзогенного репортера 5×UAS-EGFP с помощью ближнего инфракрасного света была показана с помощью микроскопического анализа и проточной цитофлуорометрии. В результате был обнаружен небольшой уровень «подтекания» системы в темноте, т. е. белки VrhP1 и QPAS1 образуют гетеродимеры не только при облучении ближним инфракрасным светом, но и в темноте. Данная работа направлена на оптимизацию оптогенетической системы VrhP1-QPAS1 путем добавления к исходной конструкции белка VVD, контролируемого синим светом. Преимуществом использования комбинации данных оптогенетических систем на дрозофиле является то, что обе системы ортогональны по отношению к клеткам дрозофилы и не будут взаимодействовать с эндогенными метаболическими путями дрозофилы.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ #20-74-00137.*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. С. Омелина

## Влияние низкомолекулярных ДНК-связывающих лигандов на активность фермента Cas9

И. Е. Мусиенко

Новосибирский государственный университет

В системе Cas9/sgРНК, используемой в качестве инструмента геномного редактирования, белок Cas9 обладает РНК-зависимой ДНК-эндонуклеазной активностью. В состав sgРНК входит вариабельный участок узнавания целевой последовательности, который формирует гетеродуплекс с целевым участком ДНК, что необходимо для расщепления ДНК. Исследование взаимодействия низкомолекулярных ДНК-связывающих лигандов с гетеродуплексом может пролить свет на механизм аллостерической регуляции при активации нуклеазы Cas9, что актуально для развития инструментов геномного редактирования.

Цель работы — исследовать влияние низкомолекулярных лигандов, связывающихся с ДНК-дуплексами и ДНК/РНК-гетеродуплексами, на активность рибонуклеопротеина Cas9/sgРНК *in vitro*.

В ходе работы были синезированы и очищены компоненты системы Cas9/sgРНК: рекомбинантный белок Cas9 *Streptococcus pyogenes*, sgРНК и плазмидный ДНК-субстрат. Затем была проведена проверка работоспособности комплекса Cas9/sgРНК и подтверждено, что расщепление плазмиды происходит только при соблюдении всех необходимых минимальных условий, т. е. наличия самого комплекса, плазмиды, буфера и ионов Mg<sup>2+</sup>. Далее было исследовано влияние низкомолекулярных ДНК-связывающих лигандов — бромистого этидия, пропидия иодида, актиномицина D и неомицина — на эффективность расщепления плазмидного субстрата комплексом Cas9/sgРНК. При концентрации бромистого этидия, пропидия иодида, актиномицина D больше 6,25 мкМ эффективность разрезания плазмиды уменьшалась примерно наполовину, чего не наблюдалось в случае неомицина.

В итоге для всех перечисленных веществ, кроме неомицина, наблюдается снижение эффективности расщепления плазмидного субстрата комплексом Cas9/sgРНК.

Научный руководитель — д-р биол. наук Д. О. Жарков

## Получение искусственной эндонуклеазы рестрикции на основе химерного белка Fpg-FokI

Г. О. Петров

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Эндонуклеазы рестрикции представляют собой значимый инструмент генной инженерии, позволяющий манипулировать геномами бактерий и вирусов. Однако специфичность ферментов рестрикции ограничена, вследствие чего невозможно подобрать фермент для любой нуклеотидной последовательности. В связи с этим ведется активная разработка искусственных нуклеаз с регулируемой специфичностью. Одними из первых появились химерные цинк-пальцевые нуклеазы ZFN. Позднее были созданы нуклеазные системы TALEN и CRISPR/Cas. Несмотря на высокую эффективность работы данных систем, они не лишены недостатков, в связи с чем требуется разработка новых типов искусственных нуклеаз.

*Целью* настоящей работы является создание искусственной нуклеазы нового типа путем соединения нуклеазного домена рестриктазы FokI с ДНК-N-гликозилазой Fpg *E. coli*, которую, в свою очередь, можно ковалентно присоединить к содержащему модифицированное основание 8-оксогуанин ДНК-зонду, нацеливающему искусственную нуклеазу на специфическую последовательность ДНК. В ходе работы была получена плаزمид, несущая ген Fpg-FokI. Подобраны оптимальные условия экспрессии химерного белка Fpg-FokI и получена его растворимая форма. Проанализирована эффективность боргидридной сшивки Fpg-FokI с ДНК-дуплексом, несущим основание 8-оксогуанин. Проведен анализ ДНК-расщепляющей активности Fpg-FokI на субстратах, содержащих тетрагидрофуран в качестве центра сайтов связывания нуклеазы.

Научный руководитель — канд. хим. наук Г. В. Мечетин

**Определение клонотипической принадлежности перевиваемой культуры клеток, полученной из аспирата костного мозга пациента с множественной миеломой**

Д. Д. Петрова, М. В. Романенко, Е. В. Долгова, С. С. Богачев  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Из аспирата костного мозга больного множественной миеломой была получена фракция адгезивных клеток, в которой через 35 дней культивирования образовались плавающие сфероагрегаты, клетки которых через три пассажа приобрели набор поверхностных маркеров, характерный для В-клеток. Перевивка фракции полученной культуры клеток, содержащей сферы, дважды иммунодефицитным мышам вызвала рост ксенотрансплантата. В первой части работы была определена клональная принадлежность опухолевых клеток трансплантата. С использованием подхода глубокого секвенирования были синтезированы три набора специфических праймеров к VDJ локусу. При ПЦР анализе ДНК из опухоли с одним набором праймеров был получен специфический фрагмент размером 500 п. о. Фрагмент был клонирован и 23 клона секвенированы. Установлено, что с небольшими вариациями все они имеют одинаковую последовательность. Для доказательства того, что полученные клоны являются не следствием ошибок ПЦР, а представляют собой ПЦР-продукты VDJ-локуса многих клеток опухоли, были проведены эксперименты по количественной детекции специфической ДНК в суммарном образце ДНК опухоли. Показано, что в составе трансплантата содержится ~71 % клонотипических В-клеток, взятых от общего расчетного числа клеток ксенографта. Во второй части был проанализирован VDJ-генотип клеток сферосодержащей культуры, давшей развитие графта. Для определения клонотипических В-клеток в культуре, содержащей плавающие сферы, перевивка которой дала рост ксенографта, был реализован аналогичный подход. Был получен специфический фрагмент, который был клонирован. Секвенированные последовательности клонов, полученных как в случае ксенографта, так и в случае сферосодержащей культуры, оказались практически идентичными, а количественный анализ показал, что ~79,4 % от общего расчетного числа клеток культуры являются клонотипическими В-клетками. Полученные результаты свидетельствуют, что культура и развившийся из нее графт образованы клонотипическими В-клетками с характерным VDJ-локусом.

Научный руководитель — д-р биол. наук С. С. Богачев

## Полиспецифичность моноклонального иммуноглобулина А, индуцированная геминном

Е. А. Раззорова

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского  
Институт микробиологии им. Стефана Ангелова, г. София, Болгария

Ранее было обнаружено, что у некоторых иммуноглобулинов за счет контактных взаимодействий с факторами, характеризующими воспалительную среду, расширяется спектр связываемых антигенов, т. е. они проявляют полиспецифичность. Так, АФК, низкий рН, хаотропные агенты и др. действуют на антитела как мягкие денатурирующие агенты, а гемин (комплекс протопорфирина IX и железа) также выступает в качестве межфазного посредника в иммунном комплексе. Поскольку до сих пор остается неизученным вопрос приобретенной полиспецифичности иммуноглобулина А (IgA), целью работы явилось изучение способности гемина индуцировать полиспецифичность моноклонального IgA в отношении бактериальных, эукариотических и вирусных антигенов.

В работе были использованы моноклональный IgA (mIgA21 и mIgA72) и раствор гемина. В качестве антигенов использовали лизаты бактериальных штаммов (*Escherichia coli* (штамм BL21) и *Staphylococcus aureus*), опухолевых клеток человека линии *Colo 205*, а также рекомбинантные антигены вируса гепатита С, вируса гепатита дельта, ВИЧ и норовируса.

В ходе работы mIgA21 и mIgA72 инкубировали с 0,6 и 1,2 мкМ геминном в течение 30 мин при 4 °С. С помощью метода вестерн-блот была определена реактивность обработанного и необработанного геминном mIgA против бактериальных и эукариотических антигенов. С помощью иммуноферментного анализа произведена оценка способности mIgA взаимодействовать с вирусными антигенами.

В результате работы было установлено, что гемин индуцирует полиспецифичность моноклонального IgA21 в отношении антигенов *E. coli* BL 21, *S. aureus* и *Colo 205* в концентрации 0,6 мкМ и IgA72 в концентрации 1,2 мкМ, но не индуцирует приобретение mIgA полиспецифичных свойств к вирусным антигенам.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ  
в рамках научного проекта №19-54-18018 Болг\_а.*

Научные руководители — канд. биол. наук Е. Н. Горшкова,  
Е. А. Василенко, д-р мед. наук, проф. Ч. Л. Василев

**Анализ биологических функций  
высокомолекулярного белкового комплекса плаценты**

Т. А. Рахманова

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Плацента как основной провизорный орган является связывающим звеном между матерью и плодом с момента имплантации до родов. Ее нормальное развитие и состояние обеспечивают благоприятный исход беременности. Плацента вырабатывает гормоны и ферменты, транспортирует кислород, углекислый газ и питательные вещества в системе между организмами матери и плода. Также она регулирует поток молекул, циркулирующих между матерью и плодом, с помощью плацентарного барьера, что обеспечивает их защиту.

Ранее в нашей лаборатории было показано, что плацента человека содержит стабильный высокомолекулярный белковый комплекс (порядка 1000 кДа), основными белками которого являются серотрансферрин, плацентарная щелочная фосфатаза, сывороточный альбумин человека, хоорионический соматомамотропин и иммуноглобулины класса G, а также большое количество пептидов с молекулярной массой 2–12 кДа. Комплекс обладает ДНКазной, РНКазной, АТФазной, амилазной и фосфатазной активностями. Разнообразие белков обеспечивает полифункциональность комплекса по сравнению с его отдельными компонентами, поэтому он может участвовать во всевозможных процессах в плаценте. Такой комплекс потенциально может взаимодействовать с большим числом различных мишеней, включая различные клетки человека.

Ранее было показано, что высокомолекулярный белковый комплекс подавляет рост некоторых раковых клеток линий MCF-7, RPMI8226, HepG2. Цель данной работы — подробное изучение влияния высокомолекулярного белкового комплекса плаценты на клеточные культуры человека. В ходе работы сравнивается влияние на культуры клеток комплекса и индивидуальных белков, входящих в его состав. Полученные результаты могут быть использованы в диагностике патологий плаценты.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. Е. Седых

**Динамика восстановления крови у мышей линии С57BL/6, облученных 8 Гр  $\gamma$ -радиации, после обработки препаратами РНК**

Г. С. Риттер, П. Э. Кисаретова, В. С. Рузанова  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Данная работа является частью объемного исследования по характеристике радиопротекторных свойств двуцепочечной РНК (дцРНК), выделенной из дрожжей *S. cerevisiae*. Радиорезистентность организма можно приравнять к радиорезистентности самой чувствительной ткани. Как известно, самой чувствительной к радиации является кроветворная система. Это связано с чувствительностью активно пролиферирующих клеток крови к  $\gamma$ -радиации. В наших работах было обнаружено, что если мышам за 30 мин до облучения абсолютно летальной дозой  $\gamma$ -радиации 9,4 Гр ввести препарат суммарной РНК, то выживаемость животных составит 80–100 %. Проведенный анализ показал, что действующим веществом, определяющим радиопротекторные свойства суммарной РНК дрожжей, является дцРНК. Причем для радиопротекторного эффекта важна ее двуцепочечная форма, а не последовательность. С использованием искусственного дцРНК-зонда, меченного флуорохромом, было показано, что дцРНК интернализуют CD34+ стволовые клетки крови (СКК). Одновременно установлено, что на 9–11 сутки после облучения в селезенках экспериментальных мышей формируется до 40 лейкоцитарных колоний. Вместе полученные результаты предполагают, что дцРНК доставляется в стволовые гемопоэтические предшественники, где в результате интерференции процесса репарации двуцепочечных разрывов, вызванных  $\gamma$ -облучением, способствует корректному восстановлению генома СКК. Спасенные от летальной дозы  $\gamma$ -радиации СКК мигрируют во вторичные лимфоидные органы (селезенку), где пролиферируют. За счет этого происходит восстановление разрушенных облучением кроветворной и иммунной систем. Проведенный детальный анализ форменных элементов крови свидетельствует, что препараты дцРНК и суммарной РНК ускоряют процесс восстановления клеток крови после  $\gamma$ -облучения. У мышей, обработанных дцРНК и суммарной РНК, лейкоциты и ретикулоциты восстанавливаются на 7–10 суток раньше, чем в контрольной группе, начиная с 6-х суток после облучения. Известно, что гибель облученных мышей происходит резко, в критический временной промежуток на 11–15 сутки после облучения. Препараты РНК форсируют восстановление форменных элементов крови так, что на 11–15 сутки их количества достаточно для выживания экспериментальных животных.

Научный руководитель — д-р биол. наук С. С. Богачев

**Разработка экспрессионных рекомбинантных плазмид, содержащих гены антигенов *Multiceps multiceps***

Ю. П. Рудометов

Алтайский государственный университет, Барнаул

Мозговик овечий (*Multiceps multiceps*) — ленточный паразит, который является на стадии личинки возбудителем заболевания ценуроз. Ценуроз развивается у промежуточных хозяев — жвачных животных (крупный и мелкий рогатый скот) и у человека. Окончательным хозяином гельминта считается собака. Овцеводческие хозяйства России несут значительные финансовые потери от гибели животных, обусловленной этим заболеванием. В настоящее время для иммунопрофилактики этого заболевания используют инактивированную вакцину, которая, впрочем, имеет недостатки. По сравнению с ней рекомбинантная вакцина будет иметь ряд преимуществ: простота получения большого количества антигенов, упрощенное производство, а следовательно, и меньшая стоимость, устранение риска инфицирования. Исходя из всего этого, рекомбинантная вакцина будет более доступной и поможет сократить финансовые потери в сельском хозяйстве.

Цель работы — разработка плазмид, обеспечивающих синтез антигенов, покрывающих личинки цестод семейства *Taeniidae* вида *Multiceps multiceps* в системе *E.coli*.

В ходе работы было проведено проектирование трех рекомбинантных плазмид, содержащих гены трех антигенов *Multiceps multiceps* Tm16, Tm18 и 45w. Для конструирования рекомбинантных плазмид соответствующие гены были синтезированы на заказ. В состав каждого гена была включена нуклеотидная последовательность, кодирующая последовательность 6His. Этот участок необходим для аффинной очистки рекомбинантных белков Tm16, Tm18 и 45w. Встройку генов проводили стандартным рестриктазно-лигазным методом, для этого в участки, фланкирующие гены Tm16, Tm18 и 45w, закладывали уникальные последовательности, узнаваемые эндонуклеазами рестрикции. Полученной лигазной смесью трансформировали культуру *E.coli*, штамм NEB stable. Для отбора клонов, содержащих рекомбинантные плазмиды, использовали ПЦР. Далее нарабатывали культуру положительных клонов, выделяли плазмидную ДНК и подтверждали последовательность при помощи секвенирования по Сенгеру. В результате были сконструированы рекомбинантные плазмиды pET-Tm16, pET-Tm18 и pET-45w.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. Н. Щербаков

**Оценка эффективности противоопухолевого действия технологии «Каранахан» на модели мышинной карциномы легкого Льюиса**

В. С. Рузанова

Новосибирский государственный университет  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

На модели мышинной карциномы легкого Льюиса апробирована новая технология лечения онкологических заболеваний «Каранахан», основанная на индукции апоптоза и эрадикации стволовых опухолевых клеток. Был определен индивидуальный для данной опухоли временной режим обработок кросслинкирующим цитостатиком и сложнокомпозиционным препаратом ДНК, представляющий собой 3 инъекции циклофосфана (100 мг/кг) с интервалом в 28 часов, 3 инъекции сложнокомпозиционного препарата ДНК (0,5 мг/мышь) через 18 часов после циклофосфана и финальную обработку циклофосфаном и ДНК на 4 сутки после начала терапии. Экспериментально обнаружено, что эффективность применения данной технологии, определяемая по средней продолжительности жизни животных и динамике развития рецидивов, зависит от сезонных и годовых ритмов, а также от количества очагов опухолевого роста. Кроме того, была показана возможность диссеминации стволовых опухолевых клеток. При планировании работы было сделано предположение, что третьим событием, определяющим противоопухолевое действие технологии «Каранахан», является активация иммунного ответа, что в совокупности с апоптозом и эрадикацией стволовых опухолевых клеток создает условия для вылечивания экспериментальных животных. Было установлено, что в результате применения технологии «Каранахан» наблюдается как активация различных популяций иммунных клеток, циркулирующих в периферической системе, так и сверхактивация клеток несистемной локализации — перитонеальных макрофагов. Таким образом, в данной работе на модели мышинной карциномы легкого Льюиса была показана противоопухолевая эффективность технологии «Каранахан». Дополнительно установлено, что при применении данной технологии активируется противоопухолевый иммунный ответ как третий эффекторный терапевтический вектор.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. С. Проскурина

**Исследование путей интернализации экзосомо-подобных везикул  
*Opisthorchis felineus* в клетки эпителия  
желчных протоков человека Н69**

Е. С. Савина

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Неоплазия эпителия желчных протоков — наиболее частое последствие описторхоза, вызванного паразитированием кошачьей двуустки *Opisthorchis felineus* в желчных протоках млекопитающих, которое при определенных условиях может приводить к развитию холангиокарциномы. Механизм развития неоплазии холангиоцитов неизвестен. Существует предположение, что секретом гельминта содержит экзосомо-подобные частицы, которые могут попадать в клетки эпителия желчных протоков.

Цель данной работы — выделить экзосомо-подобные везикулы из секрета описторха и исследовать способы проникновения этих везикул в эпителиальные клетки человека. В качестве модели выбраны клетки эпителия желчных протоков человека Н69.

В рамках работы мы провели тестирование вовлеченности путей интернализации, а именно фагоцитоза, пиноцитоза, клатрин- и кавеолин-зависимого эндоцитоза с помощью ингибирования отдельных путей с использованием LY294002, хлорпромазина, цитохалазина и генистеина. В ходе работы мы выделили экзосомо-подобные частицы *O. felineus* из среды инкубации методом ультрацентрифугирования, нанесли на везикулы флуоресцентную метку Alexa Fluor 488 и инкубировали меченые везикулы с клетками Н69. Попадание меченых везикул в клетки детектировали с помощью проточной цитометрии и микроскопии. Для контроля фагоцитоза холангиоцитов применяли латексные шарики диаметром 1 микрон, которые проникают в клетки только путем фагоцитоза.

В результате нами была показана динамика интернализации экзосомо-подобных везикул описторха в холангиоциты человека, а также оценена роль фагоцитоза, макропиноцитоза, клатрин- и кавеолин-зависимого эндоцитоза в поглощении везикул.

Научный руководитель — д-р. биол. наук М. Ю. Пахарукова

**Новые платформы для контролируемой доставки  
лекарственных препаратов: полимерные 3D-скаффолды,  
нагруженные углеродными частицами**

Т. А. Савостьянова

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Атеросклеротические поражения артерий являются определяющим фактором в развитии инфарктов и инсультов. Применяемые в ангиопластике стенты нового поколения с элюирующим лекарственным покрытием позволяют эффективно ингибировать воспаление и способствуют профилактике рестеноза на пораженном участке сосуда, однако результаты рандомизированных клинических исследований указывают на негативные последствия применения таких стентов в долгосрочной перспективе. Элюция препарата из покрытий стентов в просвет сосуда ассоциируется с повышенными рисками развития тромбозов и онкологических заболеваний, вызывая дисфункцию эндотелия и оказывая негативное воздействие на иммунную систему в целом. Очевидна необходимость создания безопасных и высокоэффективных платформ доставки биологически активных агентов. Представленная работа направлена на получение гибридных композитов на основе полимерных 3D-скаффолдов, нагруженных углеродными частицами (УЧ), в качестве безопасного многофункционального покрытия для сосудистых стентов.

В качестве внутреннего слоя покрытия методом электроспиннинга из 5 % раствора ПКЛ и 10 % ЧСА в ГФИП были получены волоконные матрицы. Внешний слой композита был дополнительно нагружен сиролимусом (СРЛ) с удельным содержанием 0,9 мкг/см<sup>2</sup>; средний слой модифицирован частицами мелкодисперсного угля (1,3 %). Коллоидный раствор УЧ был получен в ходе двухэтапного размола активированного угля Anderson. Для повышения стабильности суспензии использовались растворы 5%-го поливинилпирролидона либо 10%-го ЧСА. Исследование кинетики высвобождения меченного тритием СРЛ показало, что нагруженный углеродными носителями скаффолд эффективно сохраняет значительную часть сорбированного СРЛ, высвобождая в плазму крови лишь 12 % нагруженного СРЛ в течение суток. Включенный в состав трехслойного покрытия, такой слой способствует векторизации доставки, обеспечивая разницу в концентрации препарата от 2 до 5–6 раз.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 18-15-00080*

Научный руководитель — канд. биол. наук Б. П. Челобанов

## Модифицированные направляющие РНК для системы CRISPR/Cas9

Л. В. Саковина

Новосибирский государственный университет  
Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Система геномного редактирования CRISPR/Cas9 широко используется в молекулярной биологии и генетической инженерии. Она позволяет создавать генетически модифицированные клеточные линии и организмы. С ее использованием разрабатываются подходы к лечению наследственных и вирусных заболеваний, а также для регуляции экспрессии генов. Актуальной задачей в области создания систем редактирования генома на основе CRISPR является дизайн и использование химически модифицированных направляющих РНК, обладающих повышенной стабильностью в биологических средах и эффективно направляющих действие системы геномного редактирования. В качестве модификаций направляющих РНК используют замену рибонуклеотидов на 2'-модифицированные (2'-фтор, 2'-О-метил) аналоги, LNA-нуклеотиды или дезоксирибонуклеотиды.

Целью данной работы было сравнительное исследование стабильности модифицированных направляющих РНК к действию нуклеаз сыворотки и эффективности действия системы CRISPR/Cas9, содержащих в своем составе модифицированные направляющие РНК. На основании литературных данных был проведен дизайн модифицированных направляющих РНК, содержащих 2'-модифицированные или дезоксирибонуклеотидные звенья. Исследована их стабильность к действию нуклеаз сыворотки. Проведено сравнительное изучение эффективности расщепления модельной ДНК-плазмиды белком Cas9 в присутствии синтезированных модифицированных направляющих РНК. Показано, что введение 2'-фтормодификаций не ухудшает эффективность расщепления в сравнении с немодифицированными направляющими РНК.

В результате сравнительного исследования были выбраны оптимальные для данной модельной системы паттерны модификаций направляющих РНК с целью дальнейшего их использования в клеточных системах.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-34-51026.*

Научный руководитель — канд. хим. наук Д. С. Новопашина

## Проектирование плазмидного вектора, обеспечивающего синтез браззеина в системе *Bacillus subtilis*

В. А. Северина

Алтайский государственный университет, Барнаул

Суточная норма углеводов составляет около 50 % в рационе здорового питания человека. Однако этот показатель часто превышает за счет калорийной пищи, которая во многих случаях представляет собой легко усвояемые углеводы и имеет высокий гликемический индекс.

Для предотвращения превышения гликемического уровня используют сахарозаменители. В настоящий момент в основном они представлены моносахаридами, спиртами, гликозидами, производными сахаров и некоторыми белками. Группа сладких белков также является источником аминокислот, необходимых для организма. Рассматривая физические свойства в ряду сладких белков, можно выделить браззеин, отличающийся высокой термостабильностью, а также растворимостью в воде. Он является самым маленьким сладким белком по количеству аминокислотных остатков (54 остатка у браззеина, 202 остатка у тауматина).

Предприняты попытки получения рекомбинантного браззеина при помощи дрожжей, трансгенных растений и *E. coli*. Однако ни одна из этих систем не обеспечивает получение секреторного варианта. В связи с этим целью нашей работы является разработка плазмидного вектора, обеспечивающего синтез и последующую секрецию рекомбинантного браззеина в системе *Bacillus subtilis*.

Для конструирования плазмиды использовали ранее разработанный плазмидный вектор pBSU. Отличительной особенностью этого вектора является наличие «сильного» синтетического константного промотора *Bacillus subtilis*, обеспечивающего высокий уровень синтеза РНК. Для увеличения продукции браззеина было решено разработать тандемную конструкцию, включающую кроме браззеина белок-носитель. В качестве белка-носителя было решено использовать альфа-амилазу *Bacillus subtilis*, обладающую высокой термостабильностью и секретирующуюся в культуральную среду. Был произведен ферментативный гидролиз вектора pBSU-AmyQ и плазмиды pAL2-T-Brx, несущей синтезированный ген браззеина, по сайтам AatI и PspOMI с последующим лигированием. В результате ген браззеина был встроен в плазмидный вектор, что доказывают результаты секвенирования.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. Н. Щербаков

**Долговременные эффекты темозоломида на морфологическую структуру и содержание хондроитинсульфат протеогликанов в ткани головного мозга крыс Wistar**

Д. К. Соколов, М. О. Политко, В. С. Ушаков

Институт молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Темозоломид (ТМЗ) — химиотерапевтический препарат, применяемый для лечения злокачественных глиом и меланом. Ранее было показано, что длительное применение ТМЗ приводит к изменениям транскрипционной активности генов, кодирующих коровые белки отдельных хондроитинсульфат протеогликанов (ХСПГ) — основных компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) головного мозга, состоящих из корового белка и углеводных цепей хондроитинсульфатов (ХС). При этом морфологическая структура и содержание белковых молекул и углеводных цепей ХСПГ в ткани мозга после воздействия ТМЗ не изучена. *Целью* работы является изучение влияния ТМЗ на морфологическую структуру и содержание коровых белков и углеводных цепей ХСПГ в ткани головного мозга крыс.

9-месячные крысы Wistar получали пять циклов ТМЗ (150 мг/м<sup>2</sup>) по пять дней подряд с перерывами в 16 дней между циклами. Для оценки морфологической структуры коры головного мозга крыс срезы ткани были окрашены гематоксилином и эозином. Методом иммуногистохимического (ИГХ) анализа было изучено содержание коровых белков бревикана, декорина, агрекана, а также углеводных цепей ХС в ткани коры головного мозга. В результате гистологического исследования показано, что длительное применение ТМЗ не приводило к морфологическим изменениям в коре головного мозга крыс. ИГХ-исследование показало снижение содержания ХС в коре головного мозга крыс, а также возрастание экспрессии бревикана и декорина, преимущественно за счет изменений в ВКМ, и снижение экспрессии агрекана.

Таким образом, длительное применение ТМЗ не вызывает морфологических изменений в ткани головного мозга крыс, изменяет уровень экспрессии коровых белков ХСПГ и содержание углеводных цепей ХС.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 19-75-00051. А. В. Суховских поддержана стипендией Президента РФ (СП-1816.2019.4).*

Научный руководитель — канд. биол. наук А. В. Суховских

## Наноантитела, распознающие и нейтрализующие SARS-CoV-2

П. П. Солодков

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

Пандемия COVID-19, обусловленная коронавирусом, вызывающим тяжелый острый респираторный синдром 2 (SARS-CoV-2), уже более года оказывает негативное воздействие на социальные и экономические сферы. У пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, развиваются респираторные симптомы различной степени тяжести, способные привести к летальному исходу.

SARS-CoV-2 проникает в клетки человека с помощью рецептор-связывающего домена (RBD) S-белка на поверхности вируса, RBD способен взаимодействовать с рецептором ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2), который преимущественно экспрессируется на мембранах пневмоцитов 2-го типа и кишечных эпителиальных клеток. Взаимодействие RBD-ACE2 отражает четкую терапевтическую мишень для нейтрализации вируса и предотвращения инфекции.

Данная работа направлена на получение и анализ однодоменных VHH-антител (наноантител) ламы, распознающих эпитопы RBD и нейтрализующих RBD-ACE2 взаимодействие.

После серии иммунизаций ламы с рекомбинантным RBD были выделены В-лимфоциты крови и сконструирована кДНК-библиотека VHH-последовательностей представительностью  $10^8$  клонов. Скрининг библиотеки проводился методом фагового дисплея. По результатам иммуноферментного анализа и секвенирования было обнаружено 32 независимых клона, продукты экспрессии которых связывают RBD. Из них три наноантитела высоко аффинны ( $K_D \sim 10^{-10}$ – $10^{-12}$  М) и нейтрализуют взаимодействие RBD-ACE2 с  $IC_{50} \sim 30$ – $100$  нг/мл (2–6 нМ) при конкурентном ИФА и в псевдовирусной системе. Дальнейший анализ показал, что эти наноантитела распознают два различных эпитопа RBD.

Последовательности, кодирующие высоко аффинные и нейтрализующие наноантитела, были далее клонированы в вектор для наработки VHH с Fc фрагментом IgG человека. Данные VHH-Fc были использованы для оценки защитных свойств против SARS-CoV-2 на сирийских хомяках и обеспечили профилактический и терапевтический эффект в дозе 10 мг/кг веса при дозе инфекции  $10^4$  PFU. В ближайшее время планируется получить конструкции наноантител с Fc-фрагментом, содержащие VHH одновременно против разных эпитопов RBD, и проверить их нейтрализующую активность.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. М. Наякшин

**Создание рекомбинантных плазмид, кодирующих РНК-гиды,  
для cas9-опосредованной активации экспрессии интегрина  $\alpha\beta3$   
в клетках *in vitro***

Е. В. Сухина

Сибирский государственный медицинский университет, Томск

Интегрин  $\alpha\beta3$  — рецептор клеточной адгезии, вовлеченный в процессы ангиогенеза и метастазирования и широко представленный на эндотелии опухолевых сосудов и на мембране многих типов опухолевых клеток. Этот рецептор может быть использован в качестве мишени для противоопухолевой терапии. Одним из подходов является модификация RGD-пептидами лекарственных препаратов и диагностических агентов для их адресного накопления в опухолях. Разработка и испытание таких препаратов требует наличия модельных клеточных линий с повышенной экспрессией  $\alpha\beta3$ . Для создания данных линий можно применить систему направленной активации транскрипции эндогенных генов на основе комплекса CRISPR/Cas9 Synergistic Activation Mediator (SAM). Чтобы направить белковый комплекс к генам *itgav* и *itgb3* необходимо инициировать в клетке транскрипцию специфической РНК-гида (sgRNA), информацию о последовательности которой несет рекомбинантная плаزمиды с вставкой 20 п. н. комплементарной промоторной области соответствующих генов.

Целью исследования было получить рекомбинантные плазмиды для SAM-опосредованного увеличения экспрессии  $\alpha$  и  $\beta3$  субъединиц интегрина, кодируемых генами *itgav* и *itgb3*.

Выполнен дизайн 16 праймеров для активации каждого из целевых генов *itgav* и *itgb3* человека и мыши, и проведено их клонирование в плазмиду *lenti sgRNA (MS2)*. После трансформации клеток *E. coli* Stb13 наблюдали рост колоний на селективной среде. Для дальнейшего скринингового анализа было отобрано по три случайных колонии из каждой культуральной чашки. На основании данных рестрикционного анализа было отобрано 15 плазмид, не расщепленных эндонуклеазой BsmBI. Соответствие клонированных последовательностей ожидаемым было подтверждено данными секвенирования отобранных плазмид.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. Г. Першина

**Изучение стимуляции регенерации поверхностных ран  
млекопитающих обработкой экскреторно-секреторным продуктом  
трематоды *Opisthorchis felineus***

А. А. Тарасенко

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Известно, что при хроническом описторхозе наблюдается многократное повышение пролиферации холангиоцитов — клеток эпителия желчных протоков. Ключевым компонентом взаимодействия с хозяином является секреторно-экскреторный продукт (ЭСП), выделяемый паразитами в окружающее пространство. По-видимому, секретом трематоды *Opisthorchis felineus* содержит белки и ростовые факторы, которые могут усиливать пролиферацию эпителиальных клеток и стимулировать регенерацию тканей.

Цель работы — исследование механизмов стимуляции регенерации тканей на модели заживления поверхностных ран мышей линии С57В1 препаратом секретома трематоды *Opisthorchis felineus*.

Для проведения исследования были получены препараты экскреторно-секреторного продукта и лизата взрослых особей трематод, приготовленные на 1,5 % метилцеллюлозе. Животным из пяти групп наносили поверхностную рану в диаметре 8 мм, обрабатывали хлоргексидином и затем наносили: 1 мкг ЭСП (группа 1) или 50 мкг лизата (группа 2); 10 мкг БСА (группа 3); 1,5 % метилцеллюлозы (группа 4); группу 5 оставляли без обработки. Сверху заклеивали рану с помощью пластыря-спрея Luxplast. Обработку ран проводили каждые 3 дня в течение 10 дней. Парафиновые срезы кожи окрашивали гематоксилин-эозином, по Пикро Маллори для выявления коллагеновых волокон, импрегнации серебром. По срезам кожи была проведена оценка эпителизации, образования молодых коллагеновых волокон и новых кровеносных сосудов, а также объема воспалительного инфильтрата и наличия нейтрофилов и эозинофилов. По данным изменения площади раны был посчитан процент застания раны. Процент застания раны был выше при обработке препаратами с использованием ЭСП и лизата трематод.

Научный руководитель — д-р биол. наук М. Ю. Пахарукова

**Влияние модифицированных нуклеотидов в структуре  
транс-активирующих РНК на функционирование системы  
CRISPR/Cas9 *in vitro***

П. О. Толстова, Д. В. Прохорова  
Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

На сегодняшний момент разработка модифицированных направляющих РНК является перспективным направлением совершенствования систем геномного редактирования. В ряде работ показано, что использование различных модифицированных мономеров влияет на эффективность и специфичность работы CRISPR/Cas9. Включение природных модификаций может обеспечить существенное преимущество для дальнейшего применения системы CRISPR/Cas9 за счет снижения токсичности для эукариотических клеток.

В данной работе было исследовано влияние природных модифицированных мономеров: N6-метиладенозина (m6A), 5-метилцитозина (m5C), псевдоуридина (Ψ) — в структуре направляющих транс-активирующих РНК на эффективность функционирования системы CRISPR/Cas9 *in vitro*.

В ходе работы была продемонстрирована принципиальная возможность как частичной, так и полной модификации транс-активирующих РНК с сохранением целевой активности системы геномного редактирования CRISPR/Cas9 *in vitro*. Было показано, что полное замещение аденозина на N6-метиладенозин значительно снижает эффективность работы системы. В то же время полное замещение уридина на псевдоуридин и цитидина на 5-метилцитидин в составе транс-активирующей РНК существенно не влияет на эффективность гидролиза ДНК-субстрата в сравнении с немодифицированной РНК. На основании полученных данных было установлено, что для эффективного расщепления ДНК-субстрата возможный диапазон замещения аденозина на N6-метиладенозин в транс-активирующей РНК составляет от 10 до 50 %, глубина модификации m5C и Ψ может достигать 100 %.

*Работа выполнена при поддержке Нацпроекта «Наука»: 0245-2019-0001.*

Научный руководитель — канд. хим. наук Г. А. Степанов

## **Возможности применения опухоль-адресующих бактериофагов как агента доставки бора для БНЗТ**

Я. А. Уткин

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) — это радиотерапевтический метод лечения опухолей, основанный на избирательном уничтожении опухолевых клеток путем накопления в них стабильного изотопа  $^{10}\text{B}$  и последующего облучения эпитепловыми нейтронами. Специфичное уничтожение опухолевых клеток в первую очередь обеспечено селективной доставкой изотопа бора различными адресующими агентами. В настоящее время главной задачей БНЗТ является разработка таких агентов доставки и внедрение их в терапию. Одним из основных требований, предъявляемым к агентам доставки бора, является обеспечение постоянной концентрации бора в опухоли не менее 20–35 мкг  $^{10}\text{B}$  на грамм опухоли в течение облучения. В качестве агентов для доставки стабильного изотопа бора мы предлагаем использовать опухоль-адресующие нитчатые бактериофаги, химически модифицированные флуорофором, конъюгированным с борсодержащим соединением. Такой дизайн агента позволяет обеспечить селективность доставки посредством таргетного пептида, отобранного методом фагового дисплея, а также добиться необходимой концентрации бора в опухоли.

На данном этапе бактериофаги M13, отобранные в отношении клеток опухоли молочной железы MDA-MB-231, были химически модифицированы с использованием различных концентраций флуорофора FAM-NHS. На основании полученных коэффициентов модификации белков оболочки бактериофага была определена оптимальная концентрация модифицирующего агента FAM-NHS. Методом иммунофлуоресцентного окрашивания и последующего анализа при помощи конфокальной микроскопии было показано, что модифицированный бактериофаг сохраняет способность интернализироваться в опухолевые клетки рака молочной железы MDA-MB-231, причем степень модификации положительно коррелирует с интенсивностью сигнала.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №19-72-30005.*

Научный руководитель — канд. биол. наук М. А. Дымова

## Оценка продуктивности модифицированных клеток линии НЕК 293FT в отношении наработки лентивирусных частиц

Д. А. Фролова<sup>1,2</sup>, А. Е. Лемза<sup>2</sup>, У. И. Батлук<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный университет

<sup>2</sup> Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

В последние годы исследования в непрерывно развивающейся области генной терапии открывают новые возможности для корректировки нарушенных молекулярных процессов напрямую в клетках организма путем редактирования генома. Удобным носителем для доставки трансгенов являются лентивирусные векторы (ЛВ), однако масштабирование процессов их наработки требуют оптимизации. Одним из подходов является модификация существующих клеточных линий-паковщиков, например, широко применимой линии НЕК 293FT.

В данной работе мы провели анализ модифицированных клеточных линий, полученных ранее в нашей лаборатории с использованием системы редактирования CRISPR/Cas9 на основе линии НЕК 293FT, на предмет продуктивности в отношении лентивирусных частиц (ЛЧ). В связи с изменением жизнедеятельности клеток-паковщиков во время непосредственной сборки ЛЧ, одной из основных проблем масштабирования, модификация клеточных линий была направлена на корректирование их генома для минимизации возникающих последствий. В ходе исследования модифицированных линий были проведены верификация и характеристика мутаций в их ДНК, затрагивающих гены, участвующие в обеспечении жизнеспособности клеток. Оценка продуктивности исследуемых линий проводили путем трансфекции клеток кальций-фосфатным методом системой ЛВ третьего поколения. Титр вирусных частиц определяли методом ОТ-ПЦР, используя в качестве матрицы выделенную из образцов РНК вируса. Инфективность полученных ЛЧ определяли путем трансдукции клеток линии НЕК 293FT: детекцию успешно трансдуцированных клеток проводили по уровню свечения белка EGFP, ген которого содержится в трансферной плазмиде системы ЛВ, методом проточной цитофлуориметрии.

Для обеспечения наибольшей эффективности трансфекции установили оптимальный уровень конфлюэнтности клеток — 70 %. Совокупность полученных данных была использована для оценки продуктивности полученных модифицированных клеточных линий в отношении наработки лентивирусных частиц.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. Е. Лемза

**Влияние обогащенной среды на процессы нейрогенеза в гиппокампе**

А. С. Хованский, А. В. Виноградова,  
М. Б. Сысова, М. В. Сидорова, А. В. Туркин  
Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта, Калининград

Содержание животных в условиях обогащенной среды влияет на процессы нейрональной пластичности и способствует пролиферации и дифференциации нервных стволовых клеток. Однако механизмы самоподдержания и дифференциации стволовых клеток сложны и мало изучены. Объектом исследования были крысы Wistar, которых содержали в условиях обогащенной среды (ОС) либо в стандартных условиях (СУ) вивария. Для оценки исследовательской активности и уровня тревожности проводили поведенческое фенотипирование в «Открытом поле» и «Приподнятом крестообразном лабиринте», для оценки пространственной памяти — в «Лабиринте Барнс». Исследование уровня нейрогенеза и содержания цитокинов проводили методами иммуногистохимии и полимеразной цепной реакции.

СУ- и ОС-животные проводили значительно больше времени на периферии «Открытого поля» по сравнению с центром, при этом общая двигательная активность у ОС-животных была ниже, чем у контрольных. Снижение двигательной активности связывают как со снижением стресса и общего беспокойного состояния, так и с проявлениями защитного торможения при развивающемся стрессе. В «Крестообразном лабиринте» СУ- и ОС-животные проводили больше времени в закрытых рукавах по сравнению с открытыми, но значительные различия наблюдались только у самок, что говорит о повышенном уровне тревожности. Однако в «Лабиринте Барнс» ОС-самки тратили меньше времени на поиск убежища, чем ОС-самцы или контрольные животные. Содержание в ОС способствовало увеличению в гиппокампе уровней экспрессии Ki67, DCX, BDNF, ФНО $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , а увеличение экспрессии ИЛ-10 наблюдалось только у самок. Иммуногистохимический анализ показал, что у ОС животных в зубчатой извилине существенно больше Ki67+ клеток, что свидетельствует об активации нейрогенеза. Количество Iba1+ и GFAP+ глиальных клеток в субгранулярной зоне существенно не различалось у ОС- и СУ-животных. Таким образом, ОС стимулирует нейрогенез в гиппокампе крыс.

*Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-015-00470 А.*

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. О. П. Тучина

**миРНК-направленные искусственные рибонуклеазы различной структуры: концепция дизайна и каталитические характеристики**

Д. А. Чиглинцева  
Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Развитие процессов канцерогенеза нередко сопровождается повышением экспрессии онкогенных микроРНК (миРНК), малых некодирующих молекул РНК, являющихся в норме регуляторами важнейших клеточных процессов. Перспективной стратегией снижения патологически высокого уровня миРНК является применение миРНК-направленных искусственных рибонуклеаз (иРНКаз) — конъюгатов, состоящих из адресующего олигонуклеотида и каталитического пептида.

В данной работе разработаны и исследованы миРНК-направленные иРНКазы различной структуры, которые обеспечивают расщепление миРНК либо в центральной области под действием двойных и петлеобразующих конъюгатов, либо по 5'- и 3'-концам мишени одновременно под действием крабоподобного конъюгата. Выявлено, что в зависимости от структуры конъюгаты характеризуются различной нуклеотидной специфичностью и эффективностью расщепления миРНК. Степень расщепления миРНК-мишеней двойными конъюгатами не превышает 60 %, а петлеобразующими — 85 % через 48 ч, тогда как крабоподобный конъюгат проявляет более высокую рибонуклеазную активность, приводя к 48 ч к полной деградации миРНК-мишени. Исключительной характеристикой крабоподобного конъюгата является способность разрушать миРНК в истинном каталитическом режиме в условиях многооборотной реакции. В рамках данного исследования также установлено, что в присутствии фермента РНКазы H эффективность деградации миРНК разработанными конъюгатами многократно увеличивается — в 1,5 раза для двойных конъюгатов, в 4 раза для петлеобразующих и в 45 раз для крабоподобных, по сравнению с расщеплением миРНК в гетеродуплексе с олигонуклеотидом. При сочетанном действии конъюгатов и РНКазы H деградация миРНК происходит по всей длине молекулы, что обеспечивает необратимую инактивацию миРНК вследствие ее полной деградации.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 19-14-00250.*

Научный руководитель — канд. биол. наук О. А. Патутина

## **Индукция полиспецифичности моноклональных антител IgA-изотипа буферными растворами с низкими значениями pH**

Т. С. Чурина

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского

Препараты моноклональных антител (mAb) обладают специфичностью к единственному, терапевтически значимому эпитопу. Однако в ряде недавних исследований с участием mAb IgG и IgE изотипа, но не IgA, была показана возможность расширения спектра связываемых ими структурно не родственных антигенов после их кратковременного пребывания в кислой среде. Иначе говоря, была выявлена возможность индукции полиспецифических свойств в условиях, схожих с таковыми в некоторых отделах человеческого организма или на этапах их производства. Целью настоящей работы стала оценка возможности приобретения mAb IgA-изотипа полиспецифических свойств под воздействием буферов с низкими значениями pH.

В эксперименте были использованы два mAb IgA-изотипа, полученных против эпитопов, структурно не родственных тем, что были использованы в настоящем эксперименте. Антитела обрабатывали буферами с pH 2,6 и pH 4,0 в течение 10 минут, после чего переводили их в нейтральную среду. Эффект данной модификации исследовали на панели бактериальных (*E. coli*, *S. aureus*) и опухолевых антигенов (линии *Colo 205*) с помощью метода иммуноблоттинга, на наборе отдельных белков капсида вирусов гепатита С и D, ВИЧ и норовируса – методом непрямого неконкурентного ИФА. Образование комплексов антиген-IgA детектировали с помощью вторичных анти-IgA-антител, конъюгированных с пероксидазой хрена, и субстрата, содержащего пероксид водорода.

В результате работы была показана способность модифицированных mAb в той или иной мере приобретать новые антиген-связывающие специфичности в отношении всех участвовавших в эксперименте вирусных антигенов. Однако подобный эффект не распространялся на антигены клеточного происхождения. Таким образом, индукция полиспецифичности носила избирательный характер.

*Исследование было выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-54-18018 Болг\_а.*

Научные руководители — канд. биол. наук Е. Н. Горшкова,  
Е. А. Василенко, д-р мед. наук, проф. Ч. Л. Василев

## Разработка экспрессионного вектора, обеспечивающего синтез протеазы ВИЧ-1 в системе *E.coli*

Е. О. Шелест

Алтайский государственный университет, Барнаул

Протеаза вируса иммунодефицита человека первого типа (PR HIV-1) — это фермент, участвующий в гидролизе пептидных связей белков-предшественников ВИЧ-1. Это приводит к формированию инфекционного вириона. Ключевой характер PR HIV-1 делает ее привлекательной мишенью для антиретровирусной терапии. В настоящее время на рынке представлено около 10 препаратов на основе ингибиторов протеазы HIV-1. К часто используемым на практике относятся индинавир, саквинавир, ритонавир, нелфинавир, ампренавир. Однако существующие препараты далеки от совершенства. Одна из главных проблем — их токсичность, что осложняет регулярное использование. Поэтому поиск новых ингибиторов протеазы ВИЧ-1 является актуальной задачей.

Высокопроизводительным подходом поиска ингибиторов вирусных протеаз является использование их рекомбинантных аналогов. Это позволяет сделать работу безопасной, а также снизить расходы на проведение анализов. Целью работы была разработка экспрессионного вектора, обеспечивающего синтез протеазы ВИЧ-1.

Для проектирования молекулы использовали участок последовательности полипротеина gag-pol, соответствующий вирусной протеазе. Для обеспечения созревания молекулы в ее состав была введена лидерная последовательность. Также в состав молекулы были включены N-концевой экспрессионный таг и 6×His-таг для обеспечения аффинной очистки.

В качестве акцепторного вектора была выбрана плаزمида рЕТ21а. Встройку спроектированной конструкции в вектор проводили по сайтам NdeI и NotI. Наличие встройки подтверждали рестрикционным анализом и секвенированием по Сенгеру. Для анализ синтеза целевого белка проводили трансформацию *E.coli*, штамм BL21.

Таким образом, в результате работы была разработана рекомбинантная плазмида рЕТ-PR, обеспечивающая синтез рекомбинантного протеазы ВИЧ-1 в системе *E.coli*.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. Н. Щербаков

**Эффективная интеграция трансгенов в репрессированные типы хроматина клеток дрозофилы с помощью химерных транспозаз piggyBac**

А. А. Шефер, Ю. А. Фёдорова, А. А. Юшкова

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Известно, что функционирование всех систем для доставки в клетки-мишени трансгенов, созданных на основе вирусов и транспозонов, зависит от локальной структуры хроматина. В частности, следующие 5 типов хроматина были ранее определены в культивируемых клетках Kc167 дрозофилы: BLACK, BLUE, GREEN, RED и YELLOW. Хроматины типов BLACK, BLUE и RED, YELLOW совпадают с транскрипционно неактивными и активными областями генома соответственно, тогда как тип хроматина GREEN характеризуется промежуточными уровнями транскрипции, но в целом может рассматриваться как репрессированная среда.

В этом исследовании мы продемонстрировали, что в клетках Kc167 нативная транспозаза piggyBac (PB) предпочитает интегрировать трансгены в тип хроматина RED, избегая при этом репрессированные типы хроматина BLACK, BLUE и GREEN. Чтобы увеличить частоту интеграции трансгенов в репрессированные типы хроматина, мы создали транспозазы, слитые со специфичными к разным типам хроматина белками.

Все протестированные химерные транспозазы (с полноразмерными белками Polycomb (Pc), Effete (Eff), Heterochromatin protein 1 (HP1), Heterochromatin protein 6 (HP6) или гистоном H1) оказались функциональными. Использование транспозаз Pc-PB и HP6-PB привело к небольшому увеличению частоты встраивания трансгенов во все три репрессированные типы хроматина. Применение транспозазы Eff-PB увеличило частоту встройки трансгенов только в типы хроматина BLACK и GREEN, а транспозазы HP1-PB — исключительно в тип хроматина GREEN. Наконец, использование транспозазы H1-PB привело к почти равному насыщению трансгенами типов хроматина BLACK, BLUE, RED и YELLOW. Таким образом, созданные химерные транспозазы, особенно H1-PB и HP1-PB, могут быть использованы для эффективной доставки трансгенов в репрессированные типы хроматина дрозофилы и других родственных видов. В частности, эти транспозазы могут быть использованы как инструмент для анализа эффектов положения хроматина в культивируемых клетках дрозофилы при помощи метода TRIP.

Научные руководители — канд. биол. наук А. В. Пиндюрин, Л. А. Яринич

## Изучение динамики гуморального иммунитета к SARS-CoV-2

И. С. Шульгина<sup>1</sup>, С. А. Пьянков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный аграрный университет

<sup>2</sup>ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово

Целью исследования являлось выявление соответствия профиля гуморального иммунитета больных и реконвалесцентов со стадией заболевания COVID-19. Для этого методом иммуноферментного анализа (ИФА) были определены титры антител в образцах сыворотки и плазмы крови пациентов медицинских учреждений с подозрением на коронавирусную инфекцию.

Изучен профиль специфических к SARS-CoV-2 антител классов А, М и G в крови 306 пациентов с известной из истории болезни стадией заболевания. Для выявления специфических IgA к S-1 области белка Spike использовали набор реагентов Anti SARS-CoV-2 ELISA (IgA) производства EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, ФРГ. Для выявления специфических IgM к нуклеокапсидному белку и RBD-домену Spike использовали медицинское изделие SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ производства ОАО «Вектор-Бест». Для выявления специфических IgG к цельновирионному антигену использовали медицинское изделие «SARS-CoV-2-ИФА-Вектор» производства ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

При исследовании выявлено 37 (12,0 %) отрицательных и 269 (88,0 %) положительных образцов. Сравнительный анализ подтвердил, что отрицательные образцы принадлежат пациентам ранней стадии заболевания до трех суток включительно.

Положительные образцы в полном соответствии с описанными в международной литературе данными появляются в следующем порядке: первыми, начиная с трех суток от предполагаемого инфицирования, обнаруживаются иммуноглобулины класса А. Вторыми по сроку — иммуноглобулины класса М, начиная с пятых суток после предполагаемого инфицирования. Последними — через 10–14 дней после инфицирования — выявляются иммуноглобулины класса G, их наличие говорит о формировании долговременного иммунитета к SARS-CoV-2.

Данных о титрах специфических антител позволяют оценить величину эпидемической прослойки населения и составить представление об уровне защиты общества от COVID-19.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. Е. Н. Барсукова

## **Создание и исследование CD5-специфичных химерных антигенных рецепторов**

А. А. Юрина

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Онкологические заболевания Т-клеточного происхождения составляют небольшую долю гематологических заболеваний, однако слабо поддаются лечению и характеризуются повышенной смертностью. Перспективным методом лечения Т-клеточных лимфом является иммунотерапия Т- или НК-клетками с химерными антигенными рецепторами (chimeric antigen receptor, или CAR). CAR представляет собой химерную молекулу, внеклеточная часть которой распознает опухолевые антигены, а внутриклеточная — запускает лизис клетки-мишени. В случае Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза одной из наиболее привлекательных мишеней для элиминации злокачественных Т-клеток является поверхностный белок CD5. Однако CD5 экспрессируется не только на опухолевых, но и на нормальных Т-лимфоцитах, значительно затрудняя создание CAR Т-клеточного препарата.

Чтобы преодолеть это ограничение, можно использовать CAR НК-клетки. Отсутствие экспрессии CD5 делает НК-клетки подходящими для создания CD5-специфичных эффекторов для терапии Т-клеточных неоплазий. В ходе данной работы полученные ранее в лаборатории иммуногенетики ИМКБ СО РАН scFv — одноцепочечные вариабельные фрагменты антитела, служащие внеклеточной частью CAR, были клонированы в лентивирусный вектор, и таким образом были сконструированы два варианта CD5-специфичных CAR с отличающимися scFv. Для проверки функциональности полученных CAR была произведена вирусная трансдукция НК-подобных клеток линии YT. Были получены две поликлональные линии, экспрессирующие CD5-специфичные CAR, и показана достоверная цитотоксическая активность линий в отношении CD5-позитивных раковых Т-клеток.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. В. Кулемзин

**Влияние радикальной простатэктомии  
на уровень внеклеточных микроРНК в крови**

А. В. Яковлев

Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Рак предстательной железы (РПЖ) занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности среди мужчин со злокачественными новообразованиями не только в России, но и по всему миру. Одним из основных методов лечения РПЖ является радикальная простатэктомия (РПЭ, хирургическое удаление предстательной железы). Высокая частота рецидива заболевания у пациентов, претерпевших РПЭ (20–40 %) является одним из недостатков такого лечения. Для повышения эффективности терапии РПЖ предлагается проводить мониторинг состояния пациентов до и после РПЭ с помощью анализа биомаркеров крови, включающих внеклеточные микроРНК. Эти молекулы циркулируют в крови в составе различных биополимеров и внеклеточных везикул (ВВ) и участвуют в регуляции многих физиологических и патологических процессов в организме.

Ранее в нашей лаборатории был проведен анализ 12 микроРНК (miR-19b, -22, -92a, -378, -425, -30e, -31, -125b, -200b, -205, -375, -660, -222), участвующих в патогенезе РПЖ, и было показано, что уровень их экспрессии в плазме крови изменяется после проведения РПЭ.

Целью настоящей работы является сравнительный анализ панели из 12 микроРНК, выделенных из бесклеточной фракции плазмы крови и ВВ крови здоровых доноров и пациентов с РПЖ до и после РПЭ для верификации результатов и выводов, полученных ранее.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. Е. Брызгунова

# ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

УДК 577.25

## **Влияние короткого светового дня на поведение и серотониновую систему мозга у линий мышей, различающихся по предрасположенности к каталепсии**

С. Н. Адонина

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Сезонные аффективные расстройства (САР) — это комплекс нарушений поведения, возникающих вследствие уменьшения длительности световой фазы дня и связанных с дисбалансом серотониновой (5-НТ) системы мозга. Однако патофизиологические механизмы САР остаются малоизученными.

Цель работы — исследование влияния короткого светового дня на поведение и 5-НТ-систему мозга у мышей линий C57BL/6 и СВА с предрасположенностью к патологическому замиранию (каталепсии).

Самцы опытных групп обеих линий содержались при коротком фотопериоде (свет/темнота: 4 ч/20 ч) в течение 6 недель, контрольные животные — при стандартных условиях (свет/темнота: 14 ч/10 ч). Поведение оценивали в тестах «открытое поле», «принудительное плавание», «подвешивание за хвост» и «щипковая каталепсия». Экспрессию генов, кодирующих ключевые элементы 5-НТ-системы, определяли методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Уровни 5-НТ и его метаболита 5-ННАА в структурах мозга (префронтальная кора, гиппокамп, средний мозг, гипоталамус) исследовали методом ВЭЖХ.

Короткий фотопериод привел к депрессивно-подобным изменениям в поведении у мышей обеих линий, а также усилению каталептического замирания у самцов СВА ( $p < 0,05$ ). Снижение уровня 5-НТ в гипоталамусе и гиппокампе ( $p < 0,05$ ), обусловленное коротким световым днем, было отмечено только у мышей линии СВА. Действие короткого фотопериода привело к снижению экспрессии гена 5-НТ1А рецепторов в коре ( $p < 0,05$ ) у мышей линии C57BL/6, а также к падению экспрессии генов 5-НТ1А и 5-НТ7 рецепторов в гиппокампе ( $p < 0,05$ ) и гена триптофангидроксилазы 2 — в среднем мозге ( $p < 0,05$ ) у мышей линии СВА/Лас.

Таким образом, вызванное коротким фотопериодом усиление показателей депрессивно-подобного поведения у мышей обеих линий сопровождалось снижением функциональной активности 5-НТ системы мозга, причем у животных каталептической линии СВА эти изменения были более значительными.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. В. Базовкина

**Влияние антибиотика флорфеникола на численность бактерий  
в кишечном содержимом у лабораторных мышей линии C57 Black**

А. В. Афонюшкин

Новосибирский государственный аграрный университет  
Сибирский федеральный научный центр  
агробиотехнологий РАН, п. Краснообск

В настоящее время животным часто выпаивают множество антибиотиков, остатки которых могут сохраняться и вызывать постантибиотический дисбиоз. Исследуя соотношение численности живых и мертвых бактерий в кишечном содержимом возможно оценить влияние антибиотика на микрофлору кишечника и последствия, которые может нести применение антибиотика в различных дозах. Также стоит отметить, что данное исследование актуально в отношении применения антибиотиков широкого спектра действия, так как антибиотики узкого спектра действия, как правило, не вызывают дисбиоз.

Целью данного исследования являлось изучение изменения численности бактерий в кишечном содержимом мышей под действием антибиотика флорфеникола в различных дозах путем их прямого подсчета.

В ходе исследований изучалось соотношение живых и мертвых бактериальных клеток в содержимом прямой кишки мышей, которым выпаивали антибиотик флорфеникол в терапевтической и сниженной дозе, в сравнении с контрольной группой. С помощью программы ImageJ считали клетки бактерий в камере Горяева в ультрафиолетовых лучах. Окраска осуществлялась Ноеchst 33258- синим и пропидием йодид- красным.

Таким образом, было выяснено, что через 6 часов после выпаивания антибиотика флорфеникола мышам в дозах 200 и 40 мкг на килограмм массы тела количество бактерий возросло в сравнении с интактной контрольной группой. Через 96 часов после выпаивания концентрация бактерий снизилась только в группе, получавшей флорфеникол в терапевтической дозе, и не снизилась при использовании антибиотика в субтерапевтической дозе. На основании полученных данных было установлено, что антибиотик действительно вызывает дисбактериоз в терапевтической дозе после 96 часов после выпаивания, при этом не вызывая дисбиоза в сниженной концентрации.

Научные руководители —

канд. биол. наук, доц. Н. А. Сигарева, канд. биол. наук В. Н. Афонюшкин

## Выявление депрессивно-подобного поведения у животных с опухолевым ростом и его коррекция карбонатом лития

Е. А. Ахраменко, Е. О. Васильева

МАОУ «Образовательный центр — гимназия № 6 «Горноста́й»

Научно-исследовательский институт

клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ИЦиГ СО РАН

Известно, что депрессия у онкологических больных имеет биологические механизмы и определяется как опухоль-индуцированная депрессия. Для доказательства ее формирования применяют тесты на животных. Наиболее показательными считаются тесты «принудительное плавание» и «открытое поле». Актуальным является поиск и разработка препаратов, которые были бы эффективны для коррекции опухоль обусловленной депрессии. Общепризнанным нейропротектором является карбонат лития. Целью работы было выявление признаков депрессивно-подобного поведения у животных с опухолевым ростом и оценка корригирующего действия карбоната лития.

Эксперимент проводили на мышах-самцах линии c57black в виварии ФИЦ Института Цитологии и генетики СО РАН, под контролем научного руководителя. В ходе эксперимента были сформированы 4 группы животных. В 1-ю группу вошли интактные животные; во 2-ю группу — животные с опухолевым ростом (меланома V16); в 3-й группе мыши с опухолевым ростом получали *per os* физ. раствор (плацебо); 4-я группа — животные с опухолевым ростом, которым так же *per os* вводили карбонат лития. В тесте открытое поле оценивали общий пройденный путь (см) и время (%) нахождения животного в центральной части арены. Вручную считали количество вертикальных стоек. В тесте «принудительное плавание» оценивали суммарное время подвижности животного за последние 4 мин.

В тесте «открытое поле» было выявлено, что в мыши с опухолевым ростом проводили меньше времени в центре арены и реже вставали в стойки по сравнению с интактными животными. Повышенный уровень тревожности животные с опухолевым ростом проявили и в тесте принудительное плавание, что свидетельствует о развитии депрессивно-подобного поведения. Животные с опухолевым ростом, получавшие карбонат лития, больше времени находились в центре арены, чем животные других групп и проявили меньший уровень тревожности в тесте принудительное плавание. Полученные результаты свидетельствуют о формировании депрессивно-подобного поведения у животных с опухолевым ростом и корригирующем действием карбоната лития.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Н. П. Бгатова

## **Обогащённая среда как модулятор поведенческих реакций у мышей самок линии C57BL/6**

М. В. Безручко, А. Е. Чальшева  
Сибирский федеральный университет, Красноярск  
Красноярский государственный медицинский университет  
им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск

Обогащенная среда (ОС), содержащая неодушевленные и социальные стимулы, воздействует на различные аспекты функционирования головного мозга: нейрогенез, глиогенез, синаптогенез, процессы нейровоспаления. Нарушение данных процессов ассоциировано с большинством психических расстройств. ОС увеличивает исследовательскую активность у животных в эксперименте и снижает уровень стресса, уровень кортикостероидов, увеличивает экспрессию и высвобождение окситоцина в головном мозге, что способствует эмпатии и снижает уровень тревожности. Известны данные по поведению самцов мышей линии C57BL/6, однако недостаточно сведений о поведении самок мышей под влиянием ОС.

Цель работы — оценить влияние ОС на поведение самок мышей.

В эксперименте участвовали половозрелые самки мышей линии C57BL/6, содержащихся в условиях ОС ( $n = 11$ , опытная группа) и в стандартных условиях ( $n = 6$ , контрольная группа). Поведение мышей оценивали в тестах: «Открытое поле», «Подвешивание за хвост», «Трехкамерный социальный тест», «Пятипопыточный социальный тест», «Черно-белая камера», «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Было выявлено, что опытная группа показала повышенную тревожность, предпочитая периферию и закрытые пространства в лабиринтах, пониженный интерес к новым социальным объектам и к неодушевленным объектам по сравнению с контрольной группой. Однако не обнаружено различий в мотивационном поведении между группами.

Поведение самок мышей отличается от поведения самцов мышей линии C57BL/6, предоставленной в литературе, которое, вероятно, вызвано гендерными особенностями в продуцировании окситоцина и кортикостероидов, что проявляется при реализации когнитивных функций и социального поведения.

Научный руководитель — д-р биол. наук, доц. О. Л. Лопатина

**Транскрипционный фактор *Cc2d1a* в регуляции  
аутистико-подобного поведения у мышей линии ВТВР**

И. И. Белокопытова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Аутизм — это расстройство нервной системы, характеризующееся нарушением социально-коммуникативных навыков и наличием стереотипных, повторяющихся моделей поведения. Ген *Cc2d1a* способен влиять на сложность дендритов и количество дендритных шипиков и играет роль в дифференцировке нейронов. Хотя точную патофизиологическую основу аутизма еще предстоит полностью найти, все больше данных указывают на критическую роль нейровоспаления в механизме развития этого заболевания. В этом контексте активация белком Freud-1 (кодируется геном *Cc2d1a*) NF-κВ пути, который играет значительную роль в процессе нейровоспаления, может быть толчком к развитию аутизма. Линия мышей ВТВР как модель аутизма демонстрирует снижение социального взаимодействия и стереотипное повторяющееся поведение.

Целью данной работы является изучение экспрессии генов, играющих роль в развитии и выживаемости нейронов, *Cc2d1a*, *cFos*, *Creb* и *Nfkb1* у мышей линий ВТВР и C57BL/6J в префронтальной коре и гиппокампе.

Было обнаружено достоверное увеличение уровня мРНК гена *Cc2d1a* в гиппокампе при неизменном уровне в префронтальной коре у мышей линии ВТВР. Экспрессия гена *cFos* была снижена в префронтальной коре мышей линии ВТВР. Достоверных отличий в экспрессии генов *Creb* и *Nfkb1* как в гиппокампе, так и в префронтальной коре мышей линии ВТВР и C57BL/6J обнаружено не было.

Таким образом, увеличение экспрессии гена *Cc2d1a* в гиппокампе могло, вероятно, повлечь компенсаторное уменьшение уровня мРНК гена *cFos* в префронтальной коре мышей линии ВТВР. Это хорошо согласуется с теорией о том, что активная работа гена *Cc2d1a*, возможно, вызывает нейровоспаление, а ген *cFos* известен как индуктор апоптоза.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 19-15-00027.*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. М. Кондаурова

**Изменение базовой ЭЭГ после выполнения креативных задач вербальной и образной природы у испытуемых старшего возраста**

В. Б. Билик

Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Показано, что после кратковременной когнитивной тренировки происходят изменения в базовой активности мозга, которые являются последствием предшествующих процессов. Известно, что когнитивный тренинг улучшает когнитивные функции в старшем возрасте, однако отмечается проблема невысокого переноса позитивного тренировочного эффекта с экспериментальных задач на более широкий круг когнитивного функционирования. Наиболее широкий эффект оказывает выполнение комплексных заданий, к которым можно отнести креативные задачи, однако их влияние на активность мозга на настоящий момент недостаточно изучено.

*Цель работы* — исследовать, какого типа креативные задачи, образного или вербального, оставляют след в электрической активности мозга после выполнения серии задач у людей старшего возраста. Электроэнцефалограмму (ЭЭГ) регистрировали у 29 мужчин и женщин старше 55 лет до, во время и после выполнения 30 вербальных и 30 образных креативных задач. Расчет плотности источников тока (ПИТ), указывающей на корковую локализацию ЭЭГ активности с поверхности головы, и последующие сравнения при помощи метода статистического непараметрического картирования были проведены в программе sLORETA. Корреляционный анализ проводили в пакете STATISTICA.

Получено пост/предтестовое увеличение ПИТ в теменно-затылочных областях (области интереса, ОИ), в которых также было выявлено увеличение ПИТ при решении задач образного типа. Пост/предтестовое увеличение ПИТ положительно коррелировало с образным/предтестовым увеличением ПИТ в пределах ОИ в дельта-, тета-, альфа3-, бета2-, гамма- ритмах. В то же время вербальные/предтестовые изменения ПИТ показали паттерн, отличный от паттерна изменений ПИТ как во время решения образных задач, так и в посттестовый интервал. Полученные результаты позволяют заключить, что большее последствие оставляет решение образных задач.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. Ю. Приводнова

**Магнитная гипертермия экспериментальной опухоли  
молочной железы при внутривенном введении  
магнитных наночастиц оксида железа**

Т. А. Боброва <sup>1</sup>, О. Я. Брикунова <sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Томский государственный университет

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет

<sup>3</sup> Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий,  
Томский политехнический университет

Целью работы является исследование эффективности локальной магнитной гипертермии с использованием наночастиц оксида железа, конъюгированных с таргетным рН-зависимым встраиваемым пептидом (pHLIP), при внутривенном введении наночастиц. Изучена способность наночастиц вызывать гибель опухолевых клеток линии 4Т1 и подавлять рост экспериментальной опухоли 4Т1 карциномы молочной железы мыши.

Для исследования *in vitro* к клеткам 4Т1 добавляли наночастицы до конечной концентрации 0,5 и 5 мг/мл и далее инкубировали без или при наложении переменного магнитного поля (AFM) с использованием генератора TOR ULTRA HT (NanoSystems).

Для исследования *in vivo* клетки 4Т1 перевивали самкам мышей линии BALB/c ( $n = 24$ ) и после достижения опухоли объема 30 мм<sup>3</sup> животных рандомизировали на 4 группы: животным 1 и 2-й групп вводили 1×PBS, животным 3 и 4-й групп вводили суспензию наночастиц внутривенно (50 мг/кг). Через 24 часа животных 2 и 4-й групп подвергали воздействию переменного магнитного поля. Введение наночастиц повторяли на 3 и 7 сутки с последующей экспозицией AMF через 24 часа. После 60-минутного воздействия AFM на клетки в присутствии наночастиц в концентрации 5 мг/мл наблюдали увеличение числа клеток с цитофлуориметрическими признаками апоптоза.

Результаты экспериментов *in vivo* показали замедление скорости роста опухоли у мышей с трехкратным внутривенным введением наночастиц и последующей гипертермией в течение 60 минут по сравнению с тремя другими экспериментальными группами животных.

Таким образом, трехкратное внутривенное введение магнитных наночастиц, конъюгированных с таргетным пептидом pHLIP, с последующей гипертермией в течение 60 минут приводит к торможению роста экспериментальной опухоли.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. Г. Першина

## **Пилокарпин-индуцированный эпилептический статус приводит к морфологическим изменениям в гиппокампе молодых крыс**

Е. Н. Вылекжанина

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

Височная эпилепсия (ВЭ), развивающаяся в раннем возрасте, приводит к изменениям в мозге, специфика которых изучена недостаточно.

Целью работы стал анализ морфологических изменений в полях СА1, СА3, хилусе и зубчатой фасции (ЗФ) гиппокампа в латентную и хроническую фазы литий-пилокарпиновой модели ВЭ молодых крыс.

Эпилептический статус (ЭС) индуцировали у самцов крыс Вистар в возрасте 21 день внутрибрюшинным введением пилокарпина (30 мг/кг). За сутки до пилокарпина вводили LiCl (127 мг/кг), за 40 мин. — метилскополамин (1 мг/кг). В контрольной группе пилокарпин заменяли NaCl. Исследование проведено через 1, 3, 7 (латентная фаза) и 30 суток (хроническая фаза) после ЭС. В каждой группе проанализировано не менее 6 животных.

Для исследования проводили транскардиальную перфузию головного мозга (PBS, 4 % PFA). Фиксация мозга проходила в 4 % PFA не менее 24 ч., криопротекция — в 30 % сахарозе не менее 2 сут., заморозка — в изопентане. Подготовленные фронтальные срезы мозга (20 мкм) окрашивали 0,05 % тионином по Нисслю. Количество нейронов анализировали на срезах между –2,76 и –3,6 мм от брегмы в ImageJ с помощью Mult-point tool в пересчете на 100 мкм. Численное изменение определяли отношением среднего количества нейронов у больных крыс к числу клеток у здоровых. Усреднение проводилось по 8–10 срезам для каждого животного.

ЭС сопровождается нейродегенерацией. Наибольшая гибель клеток выявлена в 1 сут. после ЭС: в СА1 — 29,6 %, СА3 — 27,1 %, хилусе — 27,8 %, ЗФ — 46,5 %. Затем в ЗФ наблюдается нейрогенез (1 сут. —  $59 \pm 3$  клеток, 3 сут. —  $75 \pm 3$ ) с последующей нейродегенерацией до  $64 \pm 3$  нейронов на 30 сут. после ЭС. В контрольной группе наблюдается возрастное уменьшение количества нейронов. На 30 сут. после ЭС различия между больными и контрольными группами соответственно уменьшаются: СА1 —  $59 \pm 1$  и  $51 \pm 3$ , СА3 —  $37 \pm 2$  и  $34 \pm 1$ , хилус —  $49 \pm 3$  и  $43 \pm 3$ , ЗФ —  $80 \pm 4$  и  $64 \pm 3$  нейронов.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. Т. Ю. Постникова

**Влияние произвольного бега в колесе  
на депрессивно-подобное поведение и уровень экспрессии белка STEP  
в мозге мышей линии C57Bl/6J**

С. А. Гартвих

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

В последние годы активно исследуется возможность коррекции различных психопатологий, в том числе депрессии, с помощью физических нагрузок. Для моделирования физических упражнений на грызунах используют произвольный бег в колесе. Известно, что длительный произвольный бег снижает депрессивно-подобное поведение у животных, но молекулярно-генетические механизмы, лежащие в основе данного эффекта, остаются неизвестными. Было показано, что стриатум-специфичная тирозиновая протеинфосфатаза STEP участвует в регуляции механизмов депрессии. Однако ранее не было исследовано влияние физических упражнений на экспрессию белка STEP в мозге.

В связи с этим целью данной работы было изучить влияние произвольного бега в колесе на депрессивно-подобное поведение и уровень экспрессии белка STEP в мозге у мышей линии C57Bl/6J.

Эксперименты проводились на 16 самцах мышей линии C57Bl/6J (8 контрольных и 8 опытных, имеющих доступ к беговым колесам круглые сутки). Начиная с 29-го дня проводили поведенческие тесты: «открытое поле», «новый объект», «принудительное плавание» и «подвешивание за хвост». На 35-е сутки животных декапитировали, выделяли префронтальную кору, гиппокамп и средний мозг. Определение экспрессии генов проводилось с помощью ОТ-ПЦР, определение количества белка проводилось с помощью Вестерн-Блот анализа.

Нами было показано, что у животных опытной группы снижено время неподвижности в тесте «принудительное плавание», что говорит об уменьшении депрессивно-подобного поведения. В то же время не было обнаружено влияния произвольного бега на двигательную активность, тревожность и память в поведенческих тестах. Также не было обнаружено достоверных различий по уровню мРНК и белка STEP в исследованных структурах мозга между группами.

Таким образом, произвольный бег в колесе в течение месяца снижает депрессивно-подобное поведение у мышей линии C57Bl/6J, но не влияет на белок STEP.

Научный руководитель—канд. биол. наук Е. А. Куликова

**Влияние возрастных изменений на поведение и уровень экспрессии нейротрофического фактора мозга BDNF и его рецепторов у мышей с нокаутом гена *Zbtb33***

Э.-Я. В. Гильд

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Процесс старения является неотъемлемой частью жизни любого организма. Известно, что с возрастом наблюдается снижение уровня нейротрофического фактора мозга BDNF и увеличение его проапоптотического предшественника pro-BDNF, оказывающих свое влияние через рецепторы TrkB и p75 соответственно. Также при старении наблюдается изменение профиля метилирования ДНК. Белок Kaiso, кодируемый геном *Zbtb33*, узнает метилированные остатки цитозина и за счет привлечения белковых комплексов регулирует транскрипцию большого числа генов в клетке. Однако ранее не было изучено влияние возрастной динамики на транскрипционный фактор Kaiso.

Целью работы было исследовать влияния возрастных изменений у мышей с нокаутом по гену *Zbtb33* на поведение, а также уровень экспрессии BDNF и его рецепторов.

Эксперименты проводились на 6-, 12- и 18-месячных самках мышей с нокаутом по гену *Zbtb33*. Поведение исследовали в тестах «открытое поле», «светлая-темная камера» и «подвешивание за хвост». Затем животных декапитировали и выделяли гиппокамп. Экспрессию генов в гиппокампе оценивали методом ПЦР в реальном времени, уровни белков оценивали методом Вестерн-блот анализа.

Нами было обнаружено снижение двигательной ( $p < 0,01$ ) и исследовательской ( $p < 0,001$ ) активности с возрастом. В гиппокампе не было обнаружено изменений по уровню мРНК генов *Bdnf*, *TrkB* и *p75* у мышей разных возрастных групп. В то же время было обнаружено увеличение уровня проапоптотического белка pro-BDNF ( $p < 0,05$ ), но не было изменений по уровню белков BDNF, p75 и TrkB с возрастом у данной линии мышей.

Таким образом, впервые показано, что с возрастом у мышей с нокаутом гена *Zbtb33* наблюдается снижение двигательной и исследовательской активностей, а также увеличение уровня белка pro-BDNF в гиппокампе, что может указывать на возможные апоптотические процессы в мозге.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. А. Куликова

## Моторные функции у мышей при отсутствии рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами 5-го типа

А. В. Горяинова

Санкт-Петербургский государственный университет

Известно, что классические моноамины, например гистамин и дофамин, способны влиять на локомоторную функцию, в частности на продолжительность движений [1]. В начале XX века были выделены рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами. Эти вещества метаболически и структурно подобны моноаминам и могут являться эндогенными нейромодуляторами [2]. В настоящее время ведется активное изучение всех 15 типов рецепторов, и в этой работе исследовалась роль TAAR5 в таких моторных характеристиках, как выносливость и мышечная сила.

Данное исследование было выполнено на мышах с нокаутом гена (TAAR5-KO), кодирующего экспрессию этого рецептора ( $n = 7$ ) и мышах дикого типа WT ( $n = 6$ ). Для оценки мышечной силы и выносливости были проведены такие поведенческие тесты, как Ротарод и вертикальная лесенка. В первом тесте мышь сажали в установку, представляющую собой вращающийся барабан, с ускорением, поэтапно увеличивающимся от 10 до 30 грм. Оценивалось время нахождения животных на барабане. Вертикальная лесенка представляет собой конструкцию длиной 50 см, установленную под углом  $90^\circ$  градусов, и лестничными рейками, расположенными на расстоянии 1 см друг от друга. Животных сажали на нижние рейки и оценивали время подъема до верхней площадки. Показано, что нокаутные мыши достоверно хуже справлялись с тестом Ротарод ( $p < 0,01$ ), чем дикий тип ( $50,28 \pm 2,036$  с,  $76,85 \pm 5,632$  с соответственно). Аналогичные результаты были получены на вертикальной лесенке: мыши TAAR5-KO поднимались значительно ( $p < 0,05$ ) медленнее по сравнению с диким типом —  $23,98 \pm 2,756$  с и  $17,01 \pm 1,621$  с соответственно. Таким образом, рецепторы 5-го типа, возможно, могут оказывать модулирующее влияние на мышечную силу и выносливость.

*Работа проведена в рамках проекта*

*Санкт-Петербургского государственного университета ID: 73025317.*

---

1. Yin H. H. Action, time and the basal ganglia // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2014. Т. 369. № 1637. P. 20120473.

2. Hochman S., Gozal E. A. Trace Amines as Intrinsic Monoaminergic Modulators of Spinal Cord Functional Systems // Trace Amines and Neurological Disorders. Academic Press, 2016. P. 139–150.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. С. Калинина

**Влияние нокдауна гена *Cc2d1a* в гиппокампе на поведение и серотониновую систему мозга мышей линии ASC (Antidepressants Sensitive Catalepsy) с генетической предрасположенностью к депрессивно-подобному поведению**

Ю. Д. Григорьева

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Серотонин (5-НТ), важнейший нейромедиатор мозга, играет значительную роль в регуляции такого психического расстройства, как депрессия. Одним из наиболее изученных серотониновых рецепторов является 5-НТ1А-рецептор, так как он наиболее распространен и широко экспрессируется в головном мозге. Одним из транскрипционных регуляторов 5-НТ1А-рецептора является белок Freud-1, который кодируется геном *Cc2d1a*. Freud-1 функционирует как сильный репрессор гена *Htr1a*; было показано, что этот ген задействован в расстройствах аутистического спектра и умственной отсталости, а также в таких поведенческих реакциях, как тревожность и стресс.

Целью данной работы было изучить эффекты введения в гиппокамп вирусного конструкта, содержащего плазмиду рAAV SynH1-2\_shRNA Freud-1, вызывающего нокдаун гена *Cc2d1a*, влияющего на поведение и серотониновую систему мышей линии ASC. Показано, что введение вирусного конструкта приводит к снижению уровня мРНК гена *Cc2d1a* ( $p < 0,05$ ) в гиппокампе по сравнению с контролем. Активность 5-НТ1А рецептора достоверно увеличилась ( $p < 0,05$ ) у мышей опытной группы, в то время как уровень мРНК гена *Htr1a* снизился ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. С другой стороны, уровень мРНК гена *Htr2a* не был достоверно изменен, но активность 5-НТ2А рецептора снизилась ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Изменения в серотониновой системе у опытной группы сопровождались повышением мобильности в тесте «принудительное плавание» ( $p < 0,01$ ). Тест «открытое поле» не показал значимых различий в двигательной активности мышей всех групп. В тесте на тревожность — «темная-светлая камера» — не было обнаружено достоверных различий по всем параметрам (время, проведенное в темном отсеке и число выходов в светлый отсек,  $p > 0,05$ ).

Таким образом нокдаун гена *Cc2d1a* в гиппокампе приводит к снижению депрессивно-подобного поведения у мышей линии ASC, сопровождающемуся существенными изменениями в состоянии 5-НТ1А- и 5-НТ2А-рецепторов серотониновой системы.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. М. Кондаурова

**Роль метаботропных глутаматных рецепторов  
в формировании синаптической пластичности  
в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии у крыс**

Г. П. Диеспиров

Институт эволюционной физиологии и биохимии  
им. И. М. Сеченова, Санкт-Петербург

Целью работы было исследование механизмов формирования долговременной синаптической потенциации (ДВП) в поле СА1 гиппокампа крыс после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса (ЭС).

У крыс Вистар в возрасте 21 день индуцировали ЭС пилокарпином. Электрофизиологические исследования проводились через 1, 3 и 7 дней (латентная фаза), а также через 30 дней (хроническая фаза) после ЭС. Пластичность изучали отведением полевых возбуждающих постсинаптических потенциалов от лучистого слоя поля СА1. ДВП вызывали высокочастотной стимуляцией (ВЧС).

У крыс контрольной группы ВЧС вызывала выраженную потенциацию ответов ( $1,74 \pm 0,12$ ). В 1-й день после ЭС величина ДВП ( $1,51 \pm 0,13$ ) не отличалась от контрольного уровня, а на 3 и 7-й дни снижалась до  $1,36 \pm 0,06$  и  $1,21 \pm 0,08$  соответственно. В хроническую фазу ДВП было снижено ( $1,50 \pm 0,08$ ) по сравнению с контролем ( $1,89 \pm 0,11$ ).

Неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов МК-801 (10 мкМ) блокировал выработку ДВП у крыс как контрольной группы, так и через 1 день после ЭС ( $1,06 \pm 0,04$  и  $1,08 \pm 0,11$ ). Однако через 3 и 30 дней после ЭС на фоне блокады NMDA-рецепторов ДВП сохранялась ( $1,27 \pm 0,10$  и  $1,54 \pm 0,10$ ), что свидетельствует о появлении NMDA-независимого механизма индукции.

Блокатор метаботропных глутаматных рецепторов 1-го подтипа I группы (mGluR1) FTIDC (5 мкМ) не влиял на выработку пластичности у контрольных крыс ( $1,52 \pm 0,12$ ) и на 1-е сутки ( $1,44 \pm 0,26$ ), однако снижал уровень потенциации на 3 и 7-е сутки после ЭС ( $1,18 \pm 0,07$  и  $1,09 \pm 0,14$ ). В хроническую фазу блокада mGluR1 также приводила к достоверному снижению уровня ДВП ( $1,14 \pm 0,05$ ) у экспериментальных животных.

Таким образом, пилокарпин-индуцированный ЭС приводит к ослаблению синаптической пластичности в поле СА1 гиппокампа и изменению механизмов ее индукции. У крыс начиная с 3-го дня после ЭС и далее в хроническую фазу выявлен NMDA-независимый механизм ДВП, а mGluR1, вероятно, вносят существенный вклад в формирование этой пластичности.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доц. Т. Ю. Постникова

**Влияние генетического ожирения у самок мышей  
на вкусовые предпочтения и развитие алиментарного ожирения  
у потомства разного пола**

И. Д. Елгина

Новосибирский государственный университет

Потребление высококалорийной пищи способствует развитию ожирения. Вклад в развитие ожирения вносит также отсроченное, зависящее от пола влияние ожирения и диеты матери во время беременности и лактации. Неизвестно, как ожирение матери без вклада вредной диеты влияет на вкусовые предпочтения и развитие алиментарного ожирения у потомства и зависит ли это влияние от пола.

*Цель* — изучить влияние генетического ожирения у самок мышей на вес тела, потребление энергии, вкусовые предпочтения и чувствительность к инсулину у потомства разного пола при содержании на стандартной (СД) и сладко-жирной диете (СЖД).

У мышей мутация  $A^y$  в локусе агути ( $A^y/a$ ) вызывает развитие ожирения при потреблении стандартной диеты. Потомство, полученное от  $A^y/a$  (ожирение) и  $a/a$  (норма) самок, содержали на СД до возраста 10 недель, затем в возрасте 10–20 недель часть потомков получала в дополнение к стандартному корму сало и печень. Оценивали вес тела, общее потребление энергии и долю энергии, приходящуюся на каждый из компонентов диеты. На 20 неделе проводили оценку показателей крови.

Ожирение матерей снижало вес потомства обоего пола при потреблении СД в возрасте 4–10 недель. У потомства обоего пола потребление СЖП повышало потребление энергии с пищей и вызывало развитие ожирения, сопровождавшееся повышением уровней инсулина и глюкозы в крови и снижением толерантности к глюкозе, что свидетельствует о развитии инсулинорезистентности. Материнское ожирение оказало зависящее от пола влияние на скорость развития ожирения и вкусовые предпочтения у потомства: у самцов повысило скорость развития ожирения и потребление стандартного корма, у самок повысило потребление печени без влияния на темпы развития ожирения.

*Заключение:* у мышей ожирение матерей оказывает не зависящее от пола влияние на вес тела потомства при потреблении стандартной диеты и зависящее от пола влияние на скорость развития ожирения и вкусовые предпочтения у потомства при потреблении СЖД.

*Работа поддержана РФФИ (проект № 20-015-00469-а).*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. Н. Макарова

**Разработка сценария для парного и командного  
нейрокогнитивного профилирования,  
в том числе в условиях экспозиции острого стресс-фактора**

Е. А. Заварзин, Е. В. Четвертак, С. Д. Коваленко  
Новосибирский государственный университет

Нейрокогнитивное профилирование в кооперативной командной деятельности — актуальная задача для различных областей деятельности (например, пилотирования воздушных судов, управления сложными транспортными средствами и объектами инфраструктуры). Дополнительная сложность в прогнозировании поведения индивида в команде возникает в условиях острого стресса.

Предполагается, что синхронизация профилей стресс-реагирования в рамках кооперативного сценария повышает эффективность социального взаимодействия двух индивидов, а значит, и вероятность успешного выполнения ими ответственной, сопряженной со стрессом командной работы.

Основная цель проекта — нейрокогнитивное профилирование и определение индивидуального паттерна стресс-реагирования у взаимодействующих индивидов в процессе совместной деятельности. Для симуляции разработан сценарий, позволяющий смоделировать различные условия кооперации и конкуренции индивидов, в том числе в условиях экспозиции острого стрессора, и оценить их нейрофизиологические показатели. Сценарий выполнен в игровом формате, состоящем из трех режимов взаимодействия — индивидуального, кооперативного и конкурентного. Кроме того, участнику эксперимента в произвольный момент будут предъявляться звуковые стресс-стимулы в виде белого шума.

Обеспечена синхронная регистрация ЭЭГ-сигнала с общим потоком событий сценария в паре взаимодействующих индивидов. Программа сценария выполнена на языке Python с использованием библиотек PyQt и pylsl.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 18-29-13027.*

Научные руководители —  
канд. биол. наук. И. В. Брак, д-р филос. наук, проф. А. Н. Савостьянов

**Влияние мутации *lethal yellow* ( $A^y$ ) в гене *Agouti*  
на меланокортиновую систему мозга мышей**

А. Е. Изьюров

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Депрессивные расстройства, диабет типа II и ожирение являются актуальными проблемами современной медицины. Они способствуют возникновению и развитию других заболеваний. Гормон меланокортин через Mc4R гипоталамуса снижает потребление пищи и усиливает трату энергии. Мутация *lethal yellow* в гене *Agouti* ( $A^y$ ) приводит к эктопической экспрессии белка *agouti* в гипоталамусе, где он блокирует Mc4R рецепторы, вызывая ожирение, диабет и нарушения поведения у мышей гетерозиготных по данной мутации. В то же время влияние данной мутации на уровень экспрессии гена *Agouti* и генов меланокортиновой системы в мозге мышей исследовано не было.

Целью работы было изучение влияния мутации  $A^y$  на экспрессию генов *Agouti*, *Mc4r*, *Mc3r* и *Pomc* в мозге и на поведение мышей.

Исследование проводили на самках и самцах В6- $a/a$  и В6- $A^y/a$ . Все животные были в возрасте 6 мес., имели одинаковый генетический фон и были выкормлены самками В6- $a/a$ . Поведение животных исследовали в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «закапывание шариков», «вращающийся стержень», «трехкамерный тест». Затем животных декапитировали и определяли уровень экспрессии генов *Agouti*, *Mc4r*, *Mc3r* и *Pomc* в коре, гиппокампе и гипоталамусе. Не выявлено различий между мышами В6- $A^y/a$  и В6- $a/a$  по двигательной активности, исследовательской активности и тревожности в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» и «открытое поле». В то же время мыши В6- $A^y/a$  демонстрировали меньшее время удерживания на «вращающемся стержне», аутическое поведение в «трехкамерном тесте» и обсессивно-компульсивное поведение в тесте «закапывание шариков». Впервые выявлена высокая экспрессия гена *Agouti* в структурах мозга мышей В6- $A^y/a$ . Мутация *lethal yellow* подавляет экспрессию гена *Mc3r*, но не влияет на экспрессию генов *Mc4r* и *Pomc* в мозге мышей.

Таким образом, полученные результаты подтверждают гипотезу о связи ожирения и нарушений поведения с эктопической экспрессией гена *Agouti*.

*Исследование поддержано проектом базового финансирования  
№ 0324-2019-0041.*

Научный руководитель — д-р биол. наук А. В. Куликов

**Влияние сверхэкспрессии дофаминового нейротрофического фактора мозга (CDNF) в гиппокампе на поведение мышей с генетической предрасположенностью к депрессивно-подобному поведению**

Я. П. Каминская

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Дофаминовый нейротрофический фактор (CDNF) является перспективной мишенью в терапии болезни Паркинсона. Однако остается неясной роль CDFN в регуляции немоторного поведения, в том числе при различных психопатологиях. В связи с этим целью настоящей работы стало изучение влияния сверхэкспрессии CDFN в гиппокампе на поведение мышей с генетической предрасположенностью к депрессивно-подобному поведению.

Сверхэкспрессию CDFN в нейронах гиппокампа мышей ASC (Antidepressant Sensitive Cataleptics), характеризующихся генетически-детерминированным депрессивно-подобным поведением, индуцировали с помощью аденоассоциированного вирусного конструкта. С помощью установки PhenoMaster автоматически оценивали пройденный путь, потребление пищи и воды, число эпизодов и продолжительность сна, а также ассоциативное обучение в условиях домашней клетки. Депрессивно-подобное поведение и пространственную память оценили при помощи тестов «Подвешивание за хвост» (ТПХ) и «Водный лабиринт Морриса» (ВЛМ).

Время и число эпизодов неподвижности в тесте ТПХ было значительно ниже ( $p < 0,01$  и  $< 0,05$  соответственно) у мышей со сверхэкспрессией CDFN. В тесте ВЛМ сверхэкспрессия CDFN значительно улучшила динамику обучения животных, что выразилось в снижении дистанции ( $p < 0,01$ ) и времени нахождения платформы ( $p < 0,05$ ) уже на вторые сутки тестирования. Сверхэкспрессия CDFN привела к достоверному снижению потребления пищи ( $p < 0,05$ ) и увеличению числа эпизодов сна в светлую фазу суток ( $p < 0,01$ ), не повлияв на ассоциативное обучение, двигательную активность, потребление воды и длительность сна.

Таким образом, нами впервые показано, что сверхэкспрессия CDFN оказывает антидепрессивный эффект, а также улучшает пространственное обучение у животных с генетически-детерминированным депрессивно-подобным поведением.

*Работа поддержана грантом РФФ № 19-75-00016.*

Научный руководитель — канд. биол. наук А. С. Цыбко

**Влияние антибиотика на физиологические параметры  
среднего кишечника личинок вощиной огневки *Galleria mellonella* L.  
в ряду поколений**

Т. Н. Клементьева, А. С. Артемченко, Е. С. Косман

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

Функционирование кишечной системы насекомых животных тесно связано с микрофлорой. Состав микрофлоры может влиять на физиологические процессы, связанные с пищеварением и определять устойчивость насекомого к патогенам. Смена структуры микробного сообщества кишечника под действием различных факторов может значительно изменять устойчивость насекомых к патогенам. Один из факторов — вторичные метаболиты бактерий, ряд которых обладает антибиотическими свойствами. В результате их действия могут возникать устойчивые штаммы микроорганизмов, изменяются физиологические процессы в самом организме насекомого, связанные с пищеварением, репродукцией и иммунным ответом, в частности активности антиоксидантных систем организма.

Было изучено влияние постоянной диеты с антибиотиком (амикацин; 0,5Е/800 г корма) на ряд физиологических параметров личинок большой вощиной огневки *Galleria mellonella* лабораторной линии (ИСиЭЖ СО РАН) в дочерних генерациях. Были выявлены изменения активности ферментативных и неферментативных антиоксидантов, пищеварительных ферментов, а также продуктов обмена у личинок вощиной огневки в F<sub>10</sub> при диете с антибиотиком по сравнению с контрольной линией. В частности, наблюдалось увеличение активности пищеварительных ферментов, таких как α-амилазы и кислые протеазы, на фоне понижения активности щелочных протеаз и повышение уровня активности ферментативных и неферментативных антиоксидантов. Кроме того, присутствие в диете личинок амикацина приводило к замещению дрожжеподобными микроорганизмами кишечного бактериального сообщества.

*Исследование поддержано Программой фундаментальных научных исследований (ФНИ) государственной академии наук на 2021–2025 гг., проект № FWGS-2021-0001.*

Научные руководители — канд. биол. наук М. В. Тюрин,  
канд. биол. наук Е. А. Черткова, канд. биол. наук Н. А. Крюкова,  
канд. биол. наук О. В. Поленогова, д-р биол. наук В. В. Глупов

**Влияние фактора роста фибробластов 21 и эстрадиола на показатели углеводно-жирового обмена у овариэктомированных самок мышей линии C57Bl/6J**

Н. П. Крикливая

Новосибирский государственный университет

У женщин в постменопаузе значительно повышается риск развития ожирения и метаболического синдрома, что связано со снижением уровня основного гормона яичников эстрадиола (E2). Заместительная гормональная терапия E2 улучшает метаболические показатели, однако она сопряжена с риском развития негативных побочных эффектов (опухолеобразование, сердечно-сосудистые заболевания). В качестве альтернативы может быть предложен гормон печени фактор роста фибробластов 21 (FGF21). Он оказывает сходное с E2 нормализующее действие на метаболизм животных с ожирением. Однако этот эффект наблюдается на самцах, но не на самках. Известно, что у самок мышей со сниженным уровнем E2 в следствие овариэктомии уровень половых гормонов не отличается от таковых у самцов. Можно предположить, что у женщин в период менопаузы FGF21 будет оказывать нормализующее действие на углеводно-жировой обмен. Целью данной работы является оценка влияния введения E2 и FGF21 на гормонально-метаболические показатели, вовлеченные в регуляцию углеводно-жирового обмена, у овариэктомированных самок мышей.

Исследовали самок мышей линии C57Bl/6J, которым через 11 недель после овариэктомии на протяжении 7 дней ежедневно вводили E2 и/или FGF21, контрольные животные получали растворители препаратов. Раздельное и совместное введение FGF21 и E2 не оказало влияние на вес тела, потребление пищи и биохимические показатели крови (глюкоза, триглицериды, жирные кислоты, холестерин, инсулин). Однако глюкозотолерантный тест показал повышение толерантности к глюкозе у мышей, получавших инъекции FGF21. Таким образом, наши результаты показали, что FGF21 не снижает массу тела и жира, но тем не менее оказывает нормализующее действие на углеводно-жировой обмен у самок мышей с дефицитом эстрогена. Полученные результаты позволяют рассматривать FGF21 как потенциальный регулятор для коррекции метаболического синдрома, вызванного недостатком эстрогена у самок мышей.

*Работа поддержана Российским научным фондом (№ 17-15-01036-П).*

Научный руководитель — канд. биол. наук А. Ю. Казанцева

## Влияние молекулярного веса на динамику осмотического десвеллинга

И. М. Кузеина

Новосибирский государственный университет

В процессе холодовой консервации происходит набухание препарата роговицы. Исходя из этого, для качественной пересадки роговицы необходимо провести десвеллинг — восстановление нормального объема трансплантата в гипертонической среде с использованием осмотических агентов.

В настоящей работе была поставлена цель исследовать динамику осмотического десвеллинга осмолитами с разным молекулярным весом.

Исследование проводили на дисках роговицы свиньи диаметром 8,0 мм, сохраняемых 7–14 суток при 4 °С в консервационной среде Eusol-C (Alchimia, Италия). В экспериментах диск инкубировали в гипертоническом растворе на основе PBS и хлорида натрия (800 мОсм/кг), маннитола (200 мОсм/кг), сахарозы (200 мОсм/кг), декстрана 500 (0,08 мОсм/кг). Скорость изменения толщины диска измеряли методом, основанным на регистрации света, проходящего через роговицу и среду, окрашенную гемоглобином (5,0 мг/мл Becton Dickinson, USA).

В эксперименте получены траектории интенсивности проходящего света, коэффициенты линейной регрессии начальных участков которых были использованы для оценки скорости десвеллинга матрицы роговицы: NaCl  $R = 0,25 \pm 0,002$ ; маннитол  $R = 0,97 \pm 0,01$ ; сахароза  $R = 1,49 \pm 0,02$ ; декстран 500  $R = 0,77 \pm 0,01$  (μ/с) ( $n = 4$ ). Скорость снижения объема матрикса роговицы в среде декстрана 500 при градиенте 0,08 мОсм/кг в 3 раза выше по сравнению со скоростью в среде хлорида натрия с большей концентрацией осмотического агента.

На основании полученных результатов мы сделали вывод о том, что эффективность десвеллинга повышается с увеличением молекулярного веса осмотического агента. Использование осмолитов с высоким молекулярным весом и, следовательно, крупным размером, вероятно, снижает риск апоптоза за счет применения осмотического агента в более низких концентрациях.

Научный руководитель — д-р биол. наук, доц. Е. И. Соленов

**Влияние выработки условного рефлекса на экспрессию генов BDNF и дофаминовых рецепторов D1 и D2 в мозге мышей линии BTBR — генетической модели аутизма**

К. С. Милутинович, И. И. Белокопытова  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Расстройства аутистического спектра (РАС) являются одной из самых больших эпидемиологических проблем человечества. Несмотря на огромные усилия научного сообщества, механизмы, лежащие в основе РАС, далеки от понимания. Нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) оказывает влияние на развитие и функционирование центральной нервной системы в целом, в том числе на дофаминовые (DA) нейроны. Однако роль DA и BDNF систем в механизмах аутизма и связанного с ним нарушения обучения в настоящее время изучена недостаточно.

Целью нашей работы стало исследование влияния выработки условного рефлекса у мышей линии BTBR, являющихся моделью аутизма, на экспрессию генов, кодирующих BDNF, а также ключевые рецепторы DA системы мозга, во фронтальной коре и гиппокампе в сравнении с мышами контрольной линии C57Bl.

У мышей линии BTBR была значительно снижена способность к выработке условного рефлекса по сравнению с мышами C57Bl. При этом обучение привело к повышению экспрессии гена BDNF и снижению экспрессии гена дофаминового рецептора D1 в гиппокампе только у мышей линии C57Bl. Экспрессия гена D2-рецептора после обучения была снижена как у мышей линии C57Bl, так и у мышей BTBR. При этом обучение привело к повышению экспрессии D2-рецептора во фронтальной коре только мышей C57Bl.

Интересно отметить, что экспрессия генов, кодирующих BDNF, D1 и D2 рецепторы была снижена в гиппокампе интактных мышей BTBR. Экспрессия гена BDNF была также снижена и во фронтальной коре интактных мышей BTBR по сравнению с интактными мышами линии C57Bl.

Полученные данные позволяют предположить, что нарушения регуляции дофаминовых D1- и D2-рецепторов и нейротрофического фактора BDNF играет важную роль в выработке условного рефлекса у мышей линии BTBR — генетической модели аутизма.

*Исследования поддержаны бюджетным проектом № 0259-2021-0015.*

Научный руководитель — д-р биол. наук В. С. Науменко

**Влияние хронического введения бензопентатиепина ТС-2153 и флуоксетина на поведение и стриатум-специфичную тирозиновую протеинфосфатазу в мозге у ручных и агрессивных крыс**

В. С. Москалюк

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Агрессия является важной проблемой современного общества. В ИЦИГ СО РАН более 50 лет ведется селекция серых крыс на агрессивное по отношению к человеку поведение. Ранее на данной модели было показано анти-агрессивное действие острого введения бензопентатиепина ТС-2153. Данный препарат является ингибитором стриатум-специфичной тирозиновой протеинфосфатазы STEP, участвующей в развитии нейродегенеративных заболеваний. STEP кодируется геном *Ptpn5* и присутствует в клетке в двух активных изоформах: STEP46 и STEP61. Более того, ТС-2153 демонстрирует антидепрессантное действие. Известно, что классические антидепрессанты, в частности флуоксетин, снижают межсамцовую агрессию. Однако эффекты хронического предъявления ТС-2153 и флуоксетина на модели агрессии, вызванной страхом, ранее не были изучены.

Цель данной работы — исследовать влияние хронического введения ТС-2153 и флуоксетина на уровень экспрессии STEP и поведение агрессивных крыс.

Агрессивные самцы крыс получали ТС-2153 и флуоксетин с водой в дозировке 80 мг/л или растворитель на протяжении четырех недель. Животных тестировали на уровень агрессии по отношению к человеку в тесте «перчатка» за 2 дня до начала поения и раз в неделю на протяжении всего эксперимента. Затем животных декапитировали и извлекали мозг. В мозге определяли экспрессию гена *Ptpn5* с помощью ОТ-ПЦР, уровень белка STEP методом Вестерн-Блот и активность STEP спектрофотометрическим методом.

Как ТС-2153, так и флуоксетин значительно снизили выраженность агрессии в тесте «перчатка» у агрессивных крыс ( $p < 0,01$ ). Оба препарата снизили активность белка STEP в среднем мозге ( $p < 0,01$ ), но не в гиппокампе и гипоталамусе. Флуоксетин значительно снизил уровень белка STEP46 в гиппокампе ( $p < 0,01$ ). Влияния препаратов на уровень белка STEP61 не было выявлено ни в одной из исследованных структур. Также не было обнаружено различий в уровне мРНК гена *Ptpn5*.

Впервые был показан анти-агрессивный эффект и влияние на белок STEP хронического введения ТС-2153 и флуоксетина.

**Экспрессия кортиколиберина в мозге при хомогенетической модуляции активности глутаматергических нейронов в условиях стресса**

А. С. Мутовина

Новосибирский государственный университет

Кортиколиберин (CRH) является основным нейропептидом, участвующим в интеграции нейроэндокринных, вегетативных и поведенческих реакций при ответе на стресс. Также CRH модулирует работу ионных каналов, важных для генерации потенциала действия, и повышает, таким образом, общую активность нейронов. Глутаматергические нейроны являются основными активирующими нейронами в ЦНС и, соответственно, участвуют в активации CRH-положительных нейронов. Однако взаимосвязь этих систем недостаточно изучена. Целью работы явилось исследование влияния хомогенетической модуляции активности глутаматергических нейронов гиппокампа и префронтальной коры на экспрессию гена *Crh* мозга в условиях стресса.

Хомогенетическую активацию глутаматергических нейронов гиппокампа с одновременной разнонаправленной модуляцией активности этих нейронов в префронтальной коре как единой нейронной сети мозга проводили у взрослых самцов крыс линии Вистар. В качестве контрольной группы использовали одновозрастных интактных животных. Через 21 день половина крыс проходила тест «темная-светлая» камера, а через 7 дней все животные — тест подвешивания за хвост. Изменения экспрессии гена *Crh* оценивали в образцах гиппокампа, гипоталамуса, миндалина, префронтальной коры и среднего мозга методом ОТ-ПЦР в реальном времени через час после предъявления последнего стрессора.

Модуляция активности глутаматергических нейронов гиппокампа и префронтальной коры изменила экспрессию *Crh* не только в областях мозга с введением векторов, но и в среднем мозге животных в зависимости от числа пройденных стрессорных воздействий. Такие эффекты свидетельствуют о сложном и сочетанном взаимодействии глутаматергической системы и системы кортиколиберина разных областей мозга в ответных реакциях на острый стресс.

*Исследование выполнено при поддержке РФФ 19-15-00093*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Сухарева

## **Возраст-обусловленная гидратация соматического лимфоузла**

К. М. Николайчук, К. А. Бекенёва, М. С. Федотова

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Лимфатическая система является естественным регулятором гидратации организма (Ю. И. Бородин, 2011). Представляется актуальным изучить жидкостную составляющую лимфоузла с учетом возраста, так как лимфоузлам отводится ведущая роль в поддержании водного гомеостаза в дренируемых лимфатических регионах.

*Методы.* Эксперимент проведен на 60 белых крысах-самцах Wistar в возрастных группах «молодые» (3–5 мес.) и «старые» (1,5–2 года). Объект исследования — паховый лимфоузел. В работе использованы термогравиметрический метод с определением разных фракций воды и статистическая обработка данных в программе StatPlus, AnalystSoft Inc.

*Результаты.* Гидратация определяется рядом важных показателей. В паховом лимфоузле происходит уменьшение объема жидкости на 11,16 % и величины коэффициента емкости в 1,7 раза с возрастом. Отмечено постоянство соотношения количества жидкости и сухого вещества в паховом лимфоузле у животных молодого и старческого возраста. Так, у молодых животных это соотношение в среднем составляет 1:5, а у старых — 1:3. Плотность лимфоузла связана с количеством клеточно-волокнутого компонента: чем его больше, тем плотнее объект. Наименьшая плотность — в лимфоузлах молодых животных, и с возрастом коэффициент плотности возрастает, что свидетельствует о возрастной дегидратации на фоне увеличения волокнистых компонентов (фиброз). При этом изменяется транспортная способность лимфоузла из-за изменения объема свободной жидкости (лимфы) в синусной системе, коррелируя с ее площадью. С возрастом происходит уменьшение содержания свободной фракции при увеличении связанной фракции воды в лимфоузле. Последнее важно для сохранения функций и жизнеспособности клеток лимфоузла. Снижение водной насыщенности лимфоузла связано со структурной трансформацией, депонированием и уменьшением транзита объема лимфы по синусной системе, что отражается на функции лимфоузла в целом.

*Заключение.* Гидратация лимфоузла зависит от возраста и служит прогнозом его работоспособности в лимфатическом регионе.

Научный руководитель — д-р мед. наук, проф. В. Н. Горчаков

**Влияние флуоксетина на поведение и экспрессию ключевых генов серотониновой системы и нейротрофического фактора BDNF у мышей, содержащихся в условиях сокращенного светового дня**

З. К. Носальская, М. Т. Костыря  
Новосибирский государственный университет

Нейротрофин BDNF и нейромедиатор серотонин (5-НТ) играют важную роль в пластичности мозга. BDNF стимулирует нейрогенез через TrkB рецептор, proBDNF инициирует апоптоз через рецептор p75. Накапливаются данные об участии 5-НТ- и BDNF-систем мозга в регуляции реакции организма на изменения факторов внешней среды, в том числе светового режима.

Целью работы было изучение эффекта длительного введения флуоксетина (ингибитора обратного захвата 5-НТ) на поведение и экспрессию генов, кодирующих ключевые элементы 5-НТ- и BDNF-систем мозга, у мышей в условиях короткого фотопериода. Были использованы самцы линии C57Bl/6, которые разделялись на четыре группы: контрольная (14 ч свет/10 ч темнота) и три группы, находившиеся в условиях сокращенного светового дня (4 ч свет/20 ч темнота) и получавших через воду флуоксетин в дозах 0, 77 и 155 мкг/кг (4 недели). Двигательная активность и тревожность изучались в тесте «Открытое поле». Экспрессию генов исследовали с помощью метода ПЦР реального времени в гиппокампе, префронтальной коре, гипоталамусе и среднем мозге.

Сокращенный световой день привел к усилению тревожности ( $p < 0,05$ ), уровень которой повышался при приеме флуоксетина (155 мкг/кг,  $p < 0,05$ ). Введение обеих доз флуоксетина нормализовало уровни экспрессии генов триптофангидроксилазы 2 и транспортера 5-НТ в среднем мозге у мышей ( $p < 0,01$ ), сниженные вследствие содержания при коротком фотопериоде. Также флуоксетин (155 мкг/кг) увеличивал уровень мРНК гена 5-НТ7 рецептора в среднем мозге ( $p < 0,05$ ) и снижал повышенную экспрессию гена этого рецептора в коре у мышей, содержащихся при коротком фотопериоде ( $p < 0,05$  для дозы 77 и  $p < 0,001$  для дозы 155 мкг/кг). Сокращенный световой день привел к росту уровня мРНК гена BDNF в префронтальной коре ( $p < 0,01$ ) и гиппокампе ( $p < 0,05$ ), флуоксетин не повлиял на этот параметр.

Таким образом, у мышей введение флуоксетина на фоне действия короткого фотопериода повлияло на экспрессию генов 5-НТ системы мозга, но не BDNF, не оказав положительного эффекта на тревожность.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. В. Базовкина

**Влияние сверхэкспрессии гена 5-HT7-рецептора в среднем мозге на поведение и серотониновую систему мозга при длительной алкоголизации у мышей**

А. С. Орешко

Новосибирский государственный университет

Формирование алкогольной зависимости у человека и животных сопровождается нарушениями на уровне поведения и нейротрансмиссии серотонина (5-HT). Ключевые элементы 5-HT-системы вовлечены в регуляцию эффектов этанола. Особенно интересен 5-HT7-рецептор в связи с его ролью в развитии расстройств поведения и ауторегуляции 5-HT-системы мозга.

Целью было исследование эффекта введения в средний мозг самцов мышей линии C57BL/6 вирусного конструкта SynH1–2\_HTR7–EGFP, вызывающего сверхэкспрессию гена 5-HT7-рецептора, на поведение и серотониновую систему мозга в модели хронической алкоголизации. Влияние сверхэкспрессии этого гена оценивали через 6 недель на фоне потребления 10 % этанола (контрольные мыши пили воду). Поведение изучали в тестах «открытое поле», «темно-светлая камера». Экспрессию генов, кодирующих ключевые элементы 5-HT-системы, оценивали в структурах мозга мышей методом ОТ-ПЦР реального времени.

Двигательная активность животных не различалась между группами, но алкоголизация привела к повышению тревожности в тесте «темно-светлая камера» ( $p < 0,001$ ), введение конструкта с геном 5-HT7-рецептора не отразилось на уровне этого поведения.

У мышей, которым был введен конструкт с целевым геном, было показано значительное увеличение уровня мРНК гена 5-HT7-рецептора только в среднем мозге ( $p < 0,001$ ). Алкоголизация привела к падению экспрессии гена 5-HT1A-рецептора в префронтальной коре ( $p < 0,001$ ) и повышению уровня мРНК этого гена в среднем мозге ( $p < 0,001$ ), введение конструкта с целевым геном не повлияло на эти показатели. Сверхэкспрессия гена 5-HT7-рецептора вызвала снижение экспрессии гена 5-HT2A рецептора у мышей, получавших этанол, до уровня контрольных групп ( $p < 0,001$ ). Не выявлено изменений уровней мРНК генов триптофангидроксилазы-2 и 5-HT транспортера в среднем мозге.

Таким образом, сверхэкспрессия гена 5-HT7-рецептора в среднем мозге на фоне длительной алкоголизации привела к снижению экспрессии гена 5-HT2A-рецептора в коре, не повлияв на тревожное поведение.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. В. Базовкина

## **Изменения активности микроглии гиппокампа на разных стадиях развития признаков болезни Альцгеймера у крыс OXYS**

Д. А. Пеунов

Новосибирский государственный университет

Болезнь Альцгеймера (БА) — нейродегенеративное заболевание, которое становится основной причиной деменции, часто осложненной депрессией. Патогенез БА до конца не ясен, но тесно связан с нейровоспалением, ключевую роль в котором играют клетки микроглии. Точно не известно, какой вклад вносит воспаление на разных стадиях патогенеза БА, а для его изучения необходимы адекватные биологические модели, одной из которых является линия преждевременно стареющих крыс OXYS, характеризующихся развитием признаков БА и повышенным уровнем тревожности, предполагающим развитие депрессивно-подобного поведения (ДПП).

Цель работы — изучение функционального состояния микроглии гиппокампа на разных стадиях развития признаков БА и оценка возможного вклада его изменений в развитие ДПП у крыс OXYS.

Активацию клеток микроглии в гиппокампе крыс OXYS (контроль — крысы Вистар) оценивали иммуногистохимией ( $n = 3-4$ ) в 1,5 мес. (отсутствии признаков БА), 3 мес. (активная манифестация признаков БА), 12 мес. (накопление амилоида- $\beta$  в мозге) и 18 мес. (усиленная прогрессия признаков БА). Выраженность ДПП у крыс OXYS и Вистар в 1,5, 3, 12 и 18 мес. оценивали в тесте Порсолта ( $n = 6-13$ ).

В гиппокампе крыс OXYS в 3 мес. плотность микроглии была в 2 раза выше, чем у крыс Вистар (не достоверно), но доля активированной микроглии не различалась у крыс обеих линий. С возрастом плотность микроглии у крыс Вистар возрастала, достигая максимума в 18 мес., у крыс OXYS этот параметр значимо не менялся. В 18 мес. у крыс OXYS была повышена плотность активированной микроглии и макрофагов по сравнению с крысами Вистар ( $p < 0,05$ ). У крыс OXYS время неподвижности в тесте Порсолта — основной показатель ДПП — было повышено уже в возрасте 12 мес. по сравнению с крысами Вистар ( $p < 0,05$ ). К 18 мес. этот параметр повышался у крыс Вистар и не изменялся у крыс OXYS.

Повышение плотности микроглии в гиппокампе и развитие признаков ДПП у крыс OXYS происходит в более раннем возрасте, чем у крыс Вистар.

*Работа поддержана грантом РФФ №19-15-00044.*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. А. Рудницкая

**Цитотоксический анализ метанольных экстрактов из *Artemisia jacutica* Drob., произрастающих на территории Центральной и Северо-Восточной Якутии**

С. В. Сивцева

Северо-восточный федеральный университет  
им. М. К. Аммосова, Якутск

Род *Artemisia* L. — один из крупнейших семейств *Asteraceae*, и в Якутии насчитывается 39 видов полыней, представляющих интерес как возможные источники биологически активных веществ (БАВ). Особенности местных растений, обусловленные своеобразием природно-климатических условий региона, способствуют сильной вариации качественного и количественного состава БАВ.

В данной работе изучали цитотоксическую активность метанольных экстрактов травы *Artemisia jacutica* Drob., произрастающей на территории фитоценозов Центральной и Южной Якутии. Анализ цитотоксичности проводили согласно методическим указаниям Р. У. Хабриева на белых мышах линии balb/c обоего пола, средний вес которых составлял 30–40 г.

Сбор растительного материала произведен во время летних экспедиций на территории Амгинского, Хангаласского, Намского и Олекминского районов Якутии в 2018–2019 гг. Была выполнена геоботаническая оценка фитоценозов с разным обилием *A. jacutica*. Фитомасса объекта исследования была собрана и высушена, камерально обработана, хранилась в отдельных промаркированных пакетах из пергамента при условиях +2–4 °С. Перед экстракцией фитомасса измельчалась до порошкообразного состояния и просеивалась через сито. Экстракцию проводили на шейкере в течение суток, экстракты профильтровывали дважды через стерильные фильтры и использовали для цитотоксического анализа. Проводили трехкратную повторность опытов. Результаты подвергали статистической обработке.

Введение максимально допустимых доз апробированных экстрактов из *Artemisia jacutica* не вызывает гибель лабораторных животных (мышей). Получено значение LD<sub>50</sub> экстрактов, не превышающее 5000 мг/мл, что согласно ГОСТу 12.1.007-76 относится к IV классу опасности (малотоксичные вещества). Полученные результаты показывают перспективы использования метанольных экстрактов с малым уровнем токсичности в качестве источников БАВ профилактического действия.

Научный руководитель — канд. биол. наук Ж. М. Охлопкова

**Влияние сверхэкспрессии гена 5-НТ7-рецептора в среднем мозге на поведение и метаболизм серотониновой системы мозга мышей, находящихся в условиях короткого светового дня**

А. К. Скотникова

Новосибирский государственный университет

Серотониновая (5-НТ) система участвует в контроле нормального и патологического поведения, в том числе поведенческих расстройств, обусловленных содержанием при коротком световом дне. Многофункциональность 5-НТ связана с разнообразием его рецепторов, особое внимание привлекает 5-НТ7-рецептор, активно изучаемый в связи с его участием в регуляции функциональной активности 5-НТ-системы мозга и антидепрессантным действием его антагонистов.

*Целью работы* было изучение влияния сверхэкспрессии гена 5-НТ7-рецептора в среднем мозге на поведение и метаболизм 5-НТ-системы мозга мышей линии C57Bl/6, содержащихся в условиях короткого фотопериода. Введение в область ядер шва векторного конструкта, содержащего плазмиду AAV\_SynH1-2\_HTR7-EGFP, обеспечивало сверхэкспрессию гена 5-НТ7-рецептора. Самцы C57Bl/6 были разделены на четыре группы: контрольную (свет 14 ч/темнота 10 ч) и три группы, содержащихся в условиях короткого фотопериода (свет 4 ч/темнота 20 ч в течение 5 недель), которым вводили чистый буфер, вирусный конструкт без целевого гена и конструкт с целевым геном. Поведение оценивали в тестах «Открытое поле» и «Принудительное плавание». Уровни 5-НТ и его метаболита 5-Н1АА в структурах мозга (префронтальная кора, гиппокамп, средний мозг, гипоталамус) исследовали методом ВЭЖХ.

Содержание при коротком фотопериоде привело к снижению двигательной активности в тесте «Открытое поле» ( $p < 0,05$ ) и усилению депрессивно-подобного поведения в тесте «Принудительное плавание» на уровне тенденции ( $p = 0,08$ ) по сравнению с контрольной группой. В то же время введение конструкта с геном 5-НТ7-рецептора нормализовало эти показатели: на уровне тенденции для двигательной активности ( $p = 0,06$ ) и достоверно для депрессивно-подобного поведения ( $p < 0,05$ ). Индексы метаболизма серотонина не различались между исследуемыми группами.

Таким образом, изучение использования сверхэкспрессии гена 5-НТ7-рецептора в среднем мозге для коррекции депрессивных расстройств является перспективным направлением нейробиологии.

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. В. Базовкина

## Половые различия врожденного иммунитета личинок непарного шелкопряда

А. О. Субботина, И. А. Белоусова, С. В. Павлушин,  
Н. Г. Руднева, В. В. Мартемьянов

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Половые различия в физиологии млекопитающих в настоящий момент хорошо изучены в отличие от других классов животных. Существует ряд исследований полоспецифичности параметров иммунитета насекомых на половозрелой стадии. Однако для неполовозрелых личинок такие работы единичны. В то же время именно личиночные стадии насекомых наносят основной урон сельскому и лесному хозяйствам. Изучение полоспецифичности параметров иммунитета у личинок насекомых может открыть новые перспективы в борьбе с вредителями с использованием препаратов на основе природных патогенов.

Наша работа выполнена на непарном шелкопряде, одном из ключевых вредителей лесного хозяйства в северном полушарии. Мы сравнили один из параметров врожденного иммунитета — антибактериальную активность в ткани среднего кишечника и в лимфе самок и самцов непарного шелкопряда на личиночной стадии после заражения энтомопатогенными бактериями *Bacillus thuringiensis* и без него.

Антибактериальная активность определялась следующим методом. Лимфу и гомогенизированный кишечник центрифугировали, супернатант добавляли в отверстия в агаровой среде с бактериями *Micrococcus lysodeikticus*. По площади лизиса бактерий судили об антибактериальной активности. Пол на личиночной стадии определяли методом количественной ПЦР.

Мы показали, что у самок по сравнению с самцами происходит усиление антибактериальной активности в ткани среднего кишечника после заражения сублетальной дозой бактерий.

Таким образом, нами были показаны половые различия врожденного иммунитета на личиночной стадии у насекомого. Это знание дает простор для создания биопрепаратов более длительного действия за счет манипулирования иммунитетом самок.

Научный руководитель — канд. биол. наук. И. А. Белоусова

**Ассоциации полиморфизмов 5-HTTLPR и STin2VNTR гена —  
транспортера серотонина с характеристиками фоновой ЭЭГ  
у молодых и пожилых испытуемых**

Ю. Е. Фрол

Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Гены, регулирующие активность серотонинергической системы, могут рассматриваться как гены-кандидаты, ассоциированные с характеристиками электрической активности мозга. Одним из ключевых факторов регуляции активности этой системы является ген SLC6A4, кодирующий белок транспортер серотонина. В гене выявлено два полиморфных участка: 5-HTTLPR и STin2VNTR. Их совместное влияние на параметры фоновой ЭЭГ не изучено. Чтобы лучше понять генетическую основу различий в функциях мозга, связанную со старением, мы поставили цель — выявить ассоциации разных сочетаний генотипов по двум полиморфизмам (5-HTTLPR, STin2VNTR) гена — транспортера серотонина с характеристиками фоновой ЭЭГ в зависимости от возраста испытуемых.

В исследовании участвовали молодые ( $22 \pm 0,34$  года) и пожилые ( $65,05 \pm 0,57$  лет) испытуемые. В ходе эксперимента регистрировали ЭЭГ в состоянии с закрытыми (ЗГ) и открытыми (ОГ) глазами. Рассчитывали показатели мощности в 8 частотных диапазонах на основе быстрого преобразования Фурье. Для статистического анализа использовали дисперсионный анализ и критерий Пирсона.

На основе полиморфизмов (5-HTTLPR, STin2VNTR) были созданы комбинации генотипов, отражающие разные уровни экспрессии гена (низкий НЭ, средний СЭ и высокий ВЭ). При ЗГ выявлено взаимодействие факторов ВОЗРАСТ  $\times$  ДИАПАЗОН  $\times$  ГЕНОТИП ( $F(14, 2226) = 2,174, p = 0,007$ ). У пожилых группы ВЭ мощность альфа 2,3 ритмов ниже по сравнению со СЭ и НЭ. При ОГ выявлено взаимодействие ВОЗРАСТ  $\times$  ДИАПАЗОН  $\times$  РЕГИОН  $\times$  ГЕНОТИП ( $F(42, 6552) = 2,318, p < 0,001$ ). Связанные с уровнем экспрессии различия найдены также только у пожилых испытуемых. Носители комбинации с ВЭ имели сниженную мощность альфа 2,3 и бета 1 по сравнению со СЭ и НЭ преимущественно в задних областях мозга. Величина этого снижения коррелировала с выраженностью ориентировочной реакции (ОР) у пожилых испытуемых. Таким образом, изменения фоновой альфа- и бета-активности могут относиться к физиологическим процессам, лежащим в основе усиления ОР у пожилых лиц группы ВЭ.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Н. В. Вольф

## Особенности поведенческих реакций самок мышей NLRP3<sup>-/-</sup>

А. Е. Чалышева, М. В. Безручко

Сибирский федеральный университет, Красноярск  
Красноярский государственный медицинский университет  
им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России

Известно, что ген NLRP3 кодирует белок криопирин, который занимает важную роль в активации клеток врожденного иммунитета, принимает участие в запуске медиатора воспаления и иммунитета цитокина IL-1 и тем самым контролирует иммунный механизм, ответственный за развитие хронического воспаления в организме. NLRP3<sup>-/-</sup> мыши имеют сниженную восприимчивость к возрастным заболеваниям, включая сахарный диабет, рак, болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз.

Цель работы — изучить особенности поведения у самок NLRP3<sup>-/-</sup> мышей.

Исследование проводили на взрослых самках мышей линии C57BL/6 (контрольная группа) и NLRP3<sup>-/-</sup> (опытная группа). Нейроповеденческий статус оценивали с помощью тестов «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Черно-белая камера» (ЧБК), «Трехкамерный социальный тест» (ТСТ), «Принудительное плавание» (ПП) и «Подвешивание за хвост» (ТПХ).

При проведении теста ПКЛ NLRP3<sup>-/-</sup> мыши больше времени проводили в открытых рукавах и проявляли повышенную активность ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Появление неодушевленного объекта в ОП вызывало пониженный интерес со стороны NLRP3<sup>-/-</sup> мышей ( $p \leq 0,05$ ). Интерес к социальному объекту был одинаков в обеих группах. При оценке эмоционального статуса и мотивационного поведения в тестах ПП и ТПХ у NLRP3<sup>-/-</sup> животных было повышено общее время активности ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, опытная группа демонстрировала повышенную двигательную активность, предпочтение периферии и закрытых пространств, а также избегание новых неодушевленных предметов, поэтому самки NLRP3-нокаутных мышей могут успешно выступать моделью для исследования беспокойных состояний и тревожно-депрессивных расстройств.

Научный руководитель — д-р биол. наук, доц. О. Л. Лопатина

**Экспрессия нейротрофического фактора мозга в гиппокампе при стрессе и хомогенетической модуляции активности глутаматергических нейронов.**

Е. А. Шпилова

Новосибирский государственный университет

Нейротрофический фактор мозга (BDNF) является важным участником нейропластических процессов в отвечающих на стресс структурах центральной нервной системы, в том числе и в гиппокампе. Однако роль остро реагирующих на стресс глутаматергических нейронов этой структуры в регуляции экспрессии BDNF остается неясной. Для ответа на этот вопрос был использован хомогенетический подход в варианте DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs). Двухдневным крысам в гиппокамп вводили AAV векторы (pAAV-CaMKIIa-hM3D(Gq)-mCherry или pAAV-CaMKIIa-hM4D(Gi)-mCherry), экспрессирующие в глутаматергических нейронах DREADD рецепторы, которые при взаимодействии с клозапин-N-оксидом (CNO) стимулируют (группа Gq) или снижают (группа Gi) активность нейронов. Контрольные животные либо были интактными, либо получали вектор pAAV-CaMKIIa-Egfp, не влияющий на активность нейронов. В возрасте 1 месяц животным внутрибрюшинно вводили CNO, через 0,5 часа подвергали 6 мин. стрессу подвешивания за хвост и через час выделяли головной мозг для иммуногистохимического определения экспрессии BDNF в гиппокампе. Наибольшее число BDNF-иммунореактивных клеток обнаружено в CA1- и CA2-полях, а наименьшее — в зубчатой извилине (DG). Суммарно по всем полям гиппокампа наиболее высокое число BDNF+ клеток было у животных группы Gi, а низкое — у группы Gq. Контрольная группа занимала промежуточное положение, и все группы по этому признаку достоверно различались. Эти различия обусловлены эффектами DREADDs в полях CA1, CA2 и DG, тогда как в CA3 число BDNF+ клеток не зависело от введенного вектора. В целом впервые обнаружено, что снижение активности глутаматергических нейронов гиппокампа при стрессе способствует повышению экспрессии BDNF в этой структуре мозга.

*Работа поддержана грантом РФФ№ 19-15-00093.*

Научный руководитель — Н. Н. Дыгало

## Влияние ольфакторного выбора полового партнера на репродуктивный успех

Д. И. Юсупова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Предпочтение полового партнера является важным фактором полового отбора, оказывающим влияние на количество и приспособленность потомства у разных таксонов животных. Выбор животного основывается на различных сигналах: внешнем виде животного, аудио- и хемосигналах, брачном поведении и т. д. По запаху конспецифика грызуны способны определить его пол, возраст, генотип, диету, рецептивную фазу цикла, социальный статус и пр. Но остается не выясненным, распознают ли по запаху особи информацию о потенциальном репродуктивном успехе партнера.

*Целью* данной работы являлось исследование взаимосвязи хемосигналов самцов мышей линии Balb/c и количества потомков, а также их жизнеспособности.

После проведения тестов ольфакторного выбора, где самкам предъявляли для обнюхивания мочу двух самцов, половину самок подсаживали к предпочитаемому самцу, а другую половину — к не предпочитаемому. У родивших самок фиксировали дату родов, размер помета при рождении, массу тела на 10-е сутки и смертность в последующем периоде выкармливания на протяжении 21 дня.

В *результате* было продемонстрировано, что чем дольше самки Balb/c обнюхивали мочу самца, тем больше был у них размер помета ( $r = 0,61$ ,  $n = 15$ ,  $p = 0,01$ ). Однако предпочтение самок, выраженное через количество подходов к стимулу, отрицательно коррелировало с массой пометов на 10-е сутки после рождения ( $r = -0,60$ ,  $n = 15$ ,  $p = 0,02$ ). Сроки покрытия, общее количество покрытых самок и смертность в период вскармливания не различались между группами предпочтения.

Таким образом, сигналы мочевых меток самцов мышей могут быть важным критерием оценки их репродуктивных способностей. Важно, что эти сигналы распознаются самками даже генетически идентичных групп, таких как инбредная линия.

*Исследования поддержаны бюджетным проектом № 0259-2019-0004-C01 и выполнены на базе ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (RFMEFI62119X0023).*

Научные руководители — А. С. Хоцкина, канд. биол. наук Е. Л. Завьялов

## ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 575

### **Регуляторный потенциал полиморфизма rs3829202, расположенного в промоторе гена-супрессора опухолей *KLF6***

Т. И. Алиев, А. О. Дегтярева

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Важная задача медицины и генетики — изучение молекулярных механизмов развития онкологических заболеваний, значимую роль в которых играют функциональные однонуклеотидные замены — SNPs в регуляторных районах генома, в том числе регуляторные SNPs (rSNPs), участвующие в контроле экспрессии генов.

В данной работе поставлена цель экспериментально оценить регуляторный потенциал rs3829202(C/T), расположенного в промоторе гена Кгуеррел-подобного фактора 6 (*KLF6*) на расстоянии 753 п. н. от старта транскрипции. rs3829202 выбран из панели потенциальных rSNPs, связанных, по нашим данным, с дисбалансом аллель-специфических регуляторных событий в данных ChIP-seq и RNA-seq.

Проведена оценка способности rs3829202 влиять на связывание ДНК с белками ядерного экстракта клеточных линий Hela, HepG2, K562 и Caco2 методом EMSA. Показано, что замена C/T в позиции rs3829202 приводит к уменьшению связывания белков ядерного экстракта линий Hela, HepG2 и K562 с соответствующим ДНК-зондом. Полученные результаты указывают на то, что такая замена может нарушать сайты связывания транскрипционных факторов и доказывает регуляторный потенциал изучаемого rSNP. Для линии Caco2 не обнаружено полос связывания в районе. Это может объясняться тем, что в клеточных линиях экспрессируются разные регуляторные белки. По данным полногеномного профилирования, распределения мест связывания транскрипционных факторов в линиях HepG2 и K562 методом ChIP-seq (ENCODE) в районе локализации rs3829202 располагаются пики связывания ZBTB26, RBFox2, MLLT1, AGO2, а также POLR2A.

Для оценки регуляторного потенциала в люциферазной системе получена репортерная конструкция на базе вектора PGL 4.11 с участком промотора *KLF6* длиной 620 п. н., содержащим исследуемый полиморфизм.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. Е. Корболина

**Роль гена *S-phase kinase associated protein 1 (SKP1)*  
в биологии плоского червя *Macrostomum lignano***

Э. Л. Базарова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

*Macrostomum lignano* — свободноживущий морской плоский червь с высокой способностью к регенерации, которая обусловлена функционированием популяции соматических стволовых клеток (необластов). В экспериментах RNA-seq было обнаружено, что при облучении червей жестким ультрафиолетом значительно меняется экспрессия мРНК некоторых необласт-специфичных генов. Например, экспрессия гомолога гена человека *S-phase kinase associated protein 1 (SKP1)*, кодирующего компонент убиквитин-лигазного комплекса SCF (SKP1-CUL1-F-box), увеличивается практически вдвое. Комплекс SCF играет важную роль в регуляции клеточных процессов, способствуя деградации вторичных посредников, регуляторов клеточного цикла и факторов транскрипции. Также известна роль гена *SKP1* в регенерации нервной системы планарий *Schmidtea mediterranea*.

Целью работы является изучение влияния нокдауна экспрессии гена *SKP1* на биологию *M. lignano* с помощью метода РНК-интерференции.

Нами было установлено, что снижение экспрессии мРНК гена *SKP1* у половозрелых червей *M. lignano* не влияет на их регенерацию. У части червей (~ 40 %) наблюдалось очевидное аномальное увеличение размера семенников. С помощью дифференциальной интерференционно-контрастной микроскопии было показано, что наблюдаемые изменения морфологии возникают вследствие накопления недоразвитых сперматозоидов. В отличие от нормальных сперматозоидов они лишены дистального выроста, удлиненной головки и имеют хвост, характерный для стадии сперматиды. Тем не менее такие особи оставались частично фертильными. С другой стороны, черви, которые еще с момента вылупления подвергались РНК-интерференции *SKP1*, вырастали с сформированными гонадами, но не давали потомство. Кроме того, с помощью хромогенной *in situ* гибридизации мы детектировали экспрессию *SKP1* не только в необластах, как это предполагалось исходно, но и в гонадах *M. lignano*. Таким образом, мы показали, что ген *SKP1* существует для прохождения полноценного сперматогенеза *M. lignano*.

Научный руководитель — канд. биол. наук В. Ю. Вавилова

**Получение и характеристика линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток из фибробластов кожи пациента с компаунд-гетерозиготной мутацией в гене *SOX1* (синдромом Коэна)**

Е. В. Владимирова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Синдром Коэна (СК; OMIM 216550) — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное мутацией в гене *SOX1* (*VPS13B*). Заболевание характеризуется умственной отсталостью, послеродовой микроцефалией, лицевыми аномалиями, ожирением, миопией и пигментной ретинопатией. Белок SOX1 играет важную роль в поддержании структурной и функциональной целостности комплекса Гольджи (КГ). Его нокдаун приводит к диссоциации КГ и подавлению роста лидирующего нейрита, что в частности может являться причиной неврологического фенотипа пациентов. Также SOX1 участвует в процессах миелинизации и адипогенеза в качестве структурного компонента КГ. Основная информация о функциях *SOX1* была получена на перевивных линиях клеток и фибробластах пациентов. Существуют также мышинные модели заболевания, которые, однако, неприемлемы для человека в силу значительных видоспецифических различий. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) являются удобным инструментом для создания различных экспериментальных моделей, основанных на дифференцированных клетках. На данный момент из ИПСК человека не было создано моделей для СК.

Ультраструктурное исследование фибробластов пациента с компаунд-гетерозиготной мутацией в гене *SOX1* подтвердило нарушения, характерные для больных СК. При помощи трансфекции этих фибробластов эписомальными векторами мы получили 24 линии ИПСК, для которых провели цитогенетическое исследование и отобрали 5 линий с нормальным кариотипом. Для этих линий мы провели иммуноцитохимический и ОТ-ПЦР анализ плюрипотентных маркеров, а также оценили уровень экспрессии мРНК гена *SOX1*.

Научный руководитель — канд. биол. наук И. Е. Пристяжнюк

**Локализация двух вариантов центромерного гистона  
Н3 ( $\alpha$ CENH3 и  $\beta$ CENH3) на хромосомах ржи (*Secale cereale* L.)**

Е. О. Гришко

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Центромерный гистон Н3 (у растений — CENH3) наряду с каноническим гистоном Н3 входит в состав нуклеосом центромерного хроматина практически всех эукариотических организмов и считается эпигенетической «меткой» функциональной центромеры, так как в районе его локализации происходит формирование кинетохора. В геномах большинства видов эукариот присутствует один ген *CENH3*. Однако геномы многих видов злаков (в том числе и ржи) содержат два гена, кодирующих два варианта белка CENH3 ( $\alpha$ CENH3 и  $\beta$ CENH3).

*Цель* работы — проверка гипотезы о том, что оба гена центромерного гистона Н3 ржи являются функциональными и экспрессируются, а белки CENH3 встраиваются в центромерный хроматин.

Транскрипционную активность определяли методом ПЦР в реальном времени. Экспрессия обоих генов *CENH3* была обнаружена во всех исследованных тканях (ткани корней, листьев, coleoptилей и пыльников) двух сортов культурной ржи: Империял и Короткостебельная 69. Уровень транскрипционной активности  $\alpha$ CENH3 превышал уровень транскрипционной активности  $\beta$ CENH3 во всех образцах.

Включение  $\alpha$ CENH3 и  $\beta$ CENH3 в центромеры было показано при помощи непрямого иммуоокрашивания хромосом ржи сорта Империял с использованием специфичных к обоим вариантам CENH3 антител с последующей визуализацией сигналов методами флуоресцентной и конфокальной микроскопии.  $\alpha$ CENH3 и  $\beta$ CENH3 были зафиксированы на интерфазных ядрах и на хромосомах на различных стадиях митоза.

Таким образом, оба гена —  $\alpha$ CENH3 и  $\beta$ CENH3 — экспрессируются в различных тканях, а продукты их активности включаются в центромерные районы хромосом ржи.

*Исследования по локализации центромерного гистона выполнены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-04-00699а), исследования по измерению транскрипционной активности выполнены при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-14-00051).*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Евтушенко

**Влияние вальпроевой кислоты и ингибиторов сигнальных путей GSK3 и MEK/ERK на рост фибробластов лисицы**

А. А. Еврейская

Новосибирский государственный университет

Д. К. Беляевым был начат эксперимент, в результате которого удалось создать популяции одомашненных и агрессивных лисиц. Они представляют собой уникальную модель генетических событий раннего приручения.

Мы проводим эксперимент по получению индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) одомашненных и агрессивных лисиц для создания *in vitro* модели изучения экспрессии генов-кандидатов, предположительно влияющих на поведение лисиц. В рамках этой работы проведено исследование влияния ингибиторов сигнальных путей GSK3 и MEK/ERK SCH9001 и PD0325901 (2i) на рост фибробластов лисицы. За счет ингибирования сигнальных путей 2i повышают эффективность репрограммирования клеток в ИПСК, но есть данные, что «стандартная» концентрация для клеток некоторых видов может быть токсична. Также мы проверили токсичность вальпроевой кислоты (VPA). VPA повышает эффективность репрограммирования соматических клеток в ИПСК за счет ингибирования деацетилаз гистонов.

Культивирование фибробластов лисицы проводили в течение 15 дней в шести средах, «стандартную» по литературным источникам концентрацию 2i приняли за единицу: 1) ростовая среда (РС) без ингибиторов; 2) РС со «стандартной» концентрацией 2i (1X 2i); 3) РС с 0,33X 2i; 4) РС с 0,1X 2i; 5) РС с VPA; и 6) РС с ДМСО (растворитель для 2i).

Количество фибробластов, культивируемых в среде 0,33X 2i, не менялось, а при культивировании с 1X 2i уменьшалось в два раза. Во всех остальных условиях культивирования количество клеток увеличивалось. Следовательно, концентрация 2i 0,33X более токсична и не рекомендуется для получения ИПСК из фибробластов лисиц. VPA и концентрацию 0,1X 2i можно использовать для получения ИПСК.

На следующем этапе необходимо оценить, достаточно ли 0,1X 2i для ингибирования сигнальных путей.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. Г. Мензоров

**Хромосомная организация генома  
Ямайского листоноса (*Artibeus jamaicensis*)**

А. К. Жибурт

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Рукокрылые представляют большой интерес для исследований, так как они широко распространены по всему земному шару (более 1300 видов) и являются единственным отрядом млекопитающих, способным к настоящему машущему полету. Некоторые представители *Chiroptera* известны своей необычно большой продолжительностью жизни и обладают уникальными особенностями иммунной системы, которые позволяют им быть успешным природным резервуаром для огромного количества инфекций, в том числе и для SARS-CoV-19.

Одним из интересных свойств отличаются кариотипы рукокрылых, в особенности *Phyllostomidae*. Они варьируют в широких пределах и по диплоидному набору ( $2n = 14-62$ ), и по разнообразию морфологии половых хромосом. Даже между близкими видами могут наблюдаться значительные отличия. Одним из методов реконструкции хромосомной эволюции является хромосомный пэинтинг с использованием в качестве зондов хромосом другого вида.

Ямайский листонос (*Artibeus jamaicensis*) — представитель одного из наиболее изученных семейств рукокрылых (*Chiroptera*) — *Phyllostomidae*, обитающий в Центральной и Южной Америке. Согласно литературным данным, у этого вида наблюдается вариация по количеству хромосом в кариотипе (28–30). Целью данной работы является исследование хромосомного набора ямайского листоноса путем бэндинг-цитогенетики и сравнения с кариотипами других представителей отряда. Для получения карт районов гомологии хромосом были использованы библиотеки сортированных хромосом *Aselliscus stoliczkanus*.

В результате работы был описан кариотип ямайского листоноса,  $2n = 32$ , X-хромосома содержит аусосомную транслокацию, гомологичную хромосоме 5 *Aselliscus stoliczkanus*. При помощи C-бэндинга были выявлены гетерохроматиновые блоки. С использованием метода FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) была построена сравнительная хромосомная карта ямайского листоноса и *Aselliscus stoliczkanus*, выявлены ядрышкообразующие районы.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. А. Проскуракова

**Анализ клеточной гибели в яичниках  
и семенниках *Trl*-мутантов *Drosophila melanogaster***

А. Е. Зубкова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Клеточная гибель — фундаментальный процесс, сопровождающий развитие организмов как при патологиях, так и в норме. Существует несколько типов клеточной гибели, основные из них — апоптоз, аутофагия и некроз. Генетический контроль этих явлений активно исследуют не только на культурах клеток, но и *in vitro*, в том числе на примере модельного объекта *Drosophila melanogaster*. Установлено, что мутации в дрозофилином гене *Trithorax-like (Trl)* приводят к недостатку синтеза его целевого продукта — эволюционно консервативного белка GAGA. При этом в клетках *Trl*-мутантов наблюдается эктопическая клеточная гибель, в частности в семенниках и яичниках — массовая лизосомная активность. Поскольку GAGA — транскрипционный фактор, мы предполагаем, что изменение экспрессии его генов-мишеней служит причиной возникновения такого фенотипа.

Целью нашей работы является изучение влияния недостатка белка GAGA на регуляцию клеточной гибели в яичниках и семенниках *Drosophila melanogaster*. Мы провели сравнительный микроскопический анализ для характеристики морфологии клеточной гибели у мутантов по сравнению с нормой. Используя окрашивание антителами на белки Vasa и lamin D, выявляли распределение клеток зародышевой линии и целостность ядерной оболочки в них. Апоптоз определили методом TUNEL по наличию фрагментированной ДНК, а также антителами на белок Dcp1. Аутофагию идентифицировали с помощью химерного белка GFP-mCherry-Atg8a.

В работе мы показали, что для яичников *Trl*-мутантов характерна лизосомная активность, причем вторичная по отношению к апоптозу, который здесь развивается массово. Основная гибель клеток происходит в среднем оогенезе и сочетает признаки апоптоза и аутофагии. В семенниках *Trl*-мутантов гибель происходит в период среднего сперматогенеза, для них также характерна лизосомная активность, нет апоптоза, но наблюдается аутофагия.

Научный руководитель — д-р биол. наук Э. М. Баричева

**Сравнительный хромосомный пэйнтинг черного мунтжака  
(*Muntiacus crinifrons*) и эволюция X-хромосомы Cervinae  
(Cervidae, Cetartiodactyla)**

Е. С. Иванова

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Cervinae или настоящие олени является одним из подсемейств оленевых (Cervidae). Кариотипы семейства характеризуются разнообразием диплоидных чисел хромосом от 6 до 68. Разнообразие диплоидных чисел хромосом достигалось за счет многочисленных хромосомных перестроек. Для представителей подсемейства также характерна вариация в морфологии X-хромосомы, что является одной из особенностей отряда китопарнокопытные, отличающей их от других представителей плацентарных млекопитающих.

Настоящее исследование направлено на изучение кариотипа одного из малохромосомных видов Cervinae — черного мунтжака (*Muntiacus crinifrons*, Muntiacini) и выявление хромосомных перестроек, сформировавших разнообразие морфологии X-хромосом внутри подсемейства. При помощи флуоресцентной *in situ* гибридизации был проведен сравнительный хромосомный пэйнтинг аутосом черного мунтжака с зондами, содержащими хромосомы одногорбого верблюда. Гибридизацией ВАС-клонов с X-хромосомы коровы была осуществлена визуализация хромосомных перестроек, произошедших при формировании X-хромосом черного мунтжака, хохлатого оленя (*Elaphodus caphalophus*, Cervini) и пятнистого оленя (*Cervus nippon*, Cervini).

В результате была получена сравнительная хромосомная карта черного мунтжака с гомологиями хромосом одногорбого верблюда. Также на кариотипе черного мунтжака были выявлены блоки прицентромерного гетерохроматина и ядрышкообразующие районы. Помимо ранее описанных слияний, которые сформировали кариотип черного мунтжака, были выявлены инверсии и разрывы относительно предкового кариотипа жвачных. С помощью ДНК-проб, содержащих ВАС-клоны коровы, были визуализированы эволюционные перестройки, произошедшие в X-хромосомах представителей семейства Cervinae: выявлены три консервативных блока, инверсии и аутосомные транслокации.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. А. Проскуракова

**Рекомбинационная изменчивость генома штаммов  
*Puumala orthohantavirus* распространенных  
в разных орографических районах Республики Татарстан**

А. В. Князева

Казанский (Приволжский) федеральный университет

*Puumala orthohantavirus* (PUUV) является основным возбудителем опасного зоонозного заболевания — гемморагической лихорадки с почечным синдромом. Геном PUUV состоит из трех сегментов (S, M и L) одноцепочечной РНК и характеризуется значительной вариабельностью, причинами которой являются точечные мутации, рекомбинация и реассортация. В доступной литературе практически отсутствуют данные о последовательностях генома PUUV, имеющих рекомбинантное происхождение, поэтому целью работы было выявление вероятных рекомбинантных последовательностей S-сегмента штаммов PUUV, циркулирующих в Республике Татарстан (РТ).

Для анализа использовались нуклеотидные последовательности S-сегмента штаммов PUUV из базы данных GenBank. Построение филогенетических деревьев и сетей выполняли при помощи программ MEGA v6.0 и SplitsTree v.5 соответственно. Детекцию сайтов рекомбинации проводили с использованием программы RDP4 v.4.95.

Согласно результатам анализа построенных филогенетического дерева и сети штаммы PUUV в РТ можно сгруппировать в четыре клады: клада I локализована в западной, а клада II — в восточной части западного Предкамья, клады III и IV — в восточном и западном Закамье соответственно. Результаты детекции возможных рекомбинантных последовательностей показали достаточно высокий уровень значимости рекомбинационных событий в S-сегменте штаммов Tetevo/MG\_1333 и Kurkul/MG\_1459 из клады IV и Pestretsy/MG\_273 из клады I, причем вероятные родительские формы для каждого события представлены в нескольких вариантах.

Полученные результаты позволяют сделать заключение о существенном вкладе рекомбинационной изменчивости в генетическую вариабельность PUUV в РТ.

Научный руководитель — д-р. биол. наук, проф. А. А. Ризванов

## **Использование системы Cre/LoxP для индукции хромосомных перестроек в клетках линии HAP1**

Г. С. Кокшарова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Одним из наиболее популярных способов индукции хромосомных перестроек в научных целях является использование сайт-специфичных рекомбиназ. К ним относится Cre-рекомбиназа, заимствованная учеными у бактериофага P1. Она специфично узнает последовательность LoxP-сайтов и в зависимости от их взаимной ориентации и расположения на хромосомах индуцирует делеции, инверсии и транслокации. Система Cre/LoxP не требует наличия кофакторов и не задействует систему репарации клетки — все действия выполняются непосредственно ферментом Cre-рекомбиназой. Простота и эффективность системы позволяют использовать ее для множества целей.

Цель нашей работы — использование элементов Cre/LoxP для получения большой выборки хромосомных перестроек, затрагивающих случайные места генома клеточной линии HAP1. Эта линия примечательна тем, что имеет окологаплоидный кариотип, поэтому большинство вносимых перестроек будут находиться в гемизиготе, что облегчит анализ.

Для достижения цели требуется достаточное время экспрессии Cre-рекомбиназы и случайное распределение LoxP-сайтов по геному.

Первое достигается интеграцией гена Cre-рекомбиназы в локус *AAVSI* под доксициклин-индуцибельным промотором для контроля времени экспрессии.

Второе — использованием мобильных элементов в качестве вектора для интеграции LoxP-сайтов. Места интеграции затем локализуются.

Нами был разработан способ детекции перестроек на основе ПЦР. Детекция производилась на разных этапах культивирования клеток с доксициклином, в результате чего мы оценили зависимость между временем экспрессии Cre-рекомбиназы и вероятностью перестроек между LoxP-сайтами на разной удаленности друг от друга. Мы также произвели оценку частоты встречаемости различных перестроек в популяции клеток.

Результаты помогут использовать полученную клеточную линию для анализа влияния хромосомных перестроек на трехмерную архитектуру генома и экспрессию генов в местах, которые они затрагивают.

Научный руководитель — канд. биол. наук А. А. Хабарова

## Получение мутаций в промоторе гена *Ppd-D1* мягкой пшеницы с использованием РНК-направленной нуклеазы Cas9

А. Э. Коложвари

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Мягкая пшеница — растение длинного светового дня, то есть переходящее к колошению только при определенной продолжительности светлого времени суток. Чувствительность к фотопериоду — адаптивный признак для пшеницы, так как длина светового дня разная для разных широт. Коррекция времени колошения, является актуальной задачей для современных селекционеров, так как нечувствительность к фотопериоду сделает цветение пшеницы более ранним независимо от длины дня.

В данной работе мы фокусируемся на гене чувствительности к фотопериоду *Ppd-D1*, который занимает центральное место в схеме регуляции колошения. Анализ нечувствительных к фотопериоду аллелей генов *Ppd-1* позволил предположить, что основную роль в регуляции экспрессии этих генов играет находящийся в области промотора парный сайт связывания репрессора транскрипции СНЕ (CCA1 NIKING EXPEDITION). Однако до сих пор эта идея не была проверена.

В нашей лаборатории имеется ценная линия мягкой пшеницы Велют, которая характеризуется высокой продуктивностью, устойчивостью к различным патогенам, но ей необходимо скорректировать сроки колошения. Поэтому в нашей работе мы хотим ускорить переход к колошению данной линии и проверить гипотезу о влиянии сайтов связывания СНЕ на функционирование гена *Ppd-D1*.

Мы подобрали и оценили активность *in vitro* 19 направляющих РНК для получения нескольких типов мутаций: 1) протяженной делеции в промоторной области; 2) небольшой делеции, включающей оба сайта связывания репрессоров СНЕ; 3) точечные мутации внутри СНЕ сайтов. Из них высокую активность показали 3 пары нРНК для получения большой делеции, 4 пары для получения маленькой делеции и 2 нРНК для мутации внутри сайта СНЕ. В дальнейшем мы проверим активность выбранных нРНК в протопластах.

*Работа была выполнена при поддержке Курчатовского Геномного Центра ИЦиГ СО РАН (075-15-2019-1662)*

Научный руководитель — канд. биол. наук А. А. Киселёва

**Исследование роли композиционного цис-регуляторного элемента в регуляции экспрессии гена *MAKR4* у *Arabidopsis thaliana* L.**

А. Л. Коростелёва

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Ауксин-чувствительный ген *MEMBRANE ASSOCIATED KINASE REGULATOR 4 (MAKR4)* является маркером процесса инициации бокового корня. Осциллирующая экспрессия гена *MAKR4* наблюдается в местах закладки боковых корней, также паттерн осцилляции *MAKR4* в корне соответствует частоте колебаний уровня экспрессии ауксин-чувствительного сенсора DR5. В промоторе гена *MAKR4* были предсказаны цис-элементы, с которыми способны связываться транскрипционные факторы (ТФ) семейства ARF (AUXIN RESPONSE FACTORS), для которых известна способность формировать гомо- и гетеродимеры, и их ТФ-партнеры из других семейств.

Цель работы — изучение композиционного цис-регуляторного модуля в промоторе *MAKR4* и его роли в развитии боковых корней у *A. thaliana*.

Для этого мы изучили паттерн экспрессии GFP в линиях *MAKR4:GFP* с интактным промотором и мутированными составными частями композиционного цис-элемента в трехдневных проростках *A. thaliana* в норме и после обработки альфа-нафтилуксусной кислотой — синтетическим аналогом ауксина. Уровень экспрессии белка GFP в линиях с интактным промотором гена *MAKR4* изменяется при трехчасовой обработке ауксином, однако в случае мутации любой из частей композиционного модуля ответа на ауксин не наблюдается.

Предполагается, что взаимодействие различных частей модуля в различных условиях обеспечивает сложный пространственно-временной паттерн экспрессии *MAKR4* при закладке боковых корней. Мы также изучили паттерн экспрессии GFP в линиях *MAKR4:GFP* при длительной обработке 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислотой. Экспрессия GFP в линиях с интактным промотором *MAKR4* подавляется, однако в линиях с мутацией гексамера ААТССА экспрессия увеличивалась.

Таким образом, предсказанные в промоторной области гена *MAKR4* цис-элементы представляют собой сложный цис-регуляторный модуль, способный изменять экспрессию гена *MAKR4* в ответ на сигналы различных фитогормонов.

Научный руководитель — канд. биол. наук В. В. Миронова

## Использование фиксатора Карнуа для цитологического исследования каллусных культур *Dracocephalum palmatum* Step.

Е. В. Кучарова, Е. Е. Антонова

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

Фиксация образцов растительной ткани с целью изучения структуры и целостности клеток имеет немаловажное значение для клеточной биотехнологии растений. Фиксатор Карнуа обладает способностью быстро проникать в ткани объекта, считается удобным для фиксации объемистого эмбриологического материала. Однако отрицательным свойством данного фиксатора является то, что он вызывает неравномерное сжатие тканей, что можно решить техническим приемом.

В данной работе нами был использован свежеприготовленный фиксатор Карнуа на основе ледяной уксусной кислоты, хлороформа, этилового спирта (96 %). Материалом для изучения были каллусные культуры *Dracocephalum palmatum* Step., полученные на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) с двумя разными соотношениями концентраций фитогормонов. Первый образец каллусной культуры был получен на МС с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), НУК (1 мг/л) и кинетина (1 мг/л). Второй образец каллусных культур был получен на МС с добавлением 2,4-Д (1 мг/л), БАП (1 мг/л), НУК (1 мг/л). Оба варианта полученных каллусов имели достаточно рыхлую однородную массу светло-коричневого окраса.

Фиксацию производили суммарно в течение 8 часов включая экспозицию, многоступенчатую промывку с постоянным перемешиванием на мультешейкере. После последней промывки образцы, окрашенные свежеприготовленным метиленовым синим, выдерживали над теплой плиткой и рассматривали под микроскопом Carl ZEISS Primo Star при  $\times 40$ ,  $\times 400$  увеличениях.

Исследование показало, что в обоих вариантах каллусных культур *D. palmatum* Step. преобладали клетки округленной правильной формы с ярко выраженным ядром. Единично встречались клетки неправильной продолговатой формы. Качество полученных образцов подтвердило правильность выбора фиксатора и примененной технологии фиксации к изучению морфологической структуры клеток каллусных культур.

Научный руководитель — канд. биол. наук Ж. М. Охлопкова

## Характеристика растений табака, мутантных по генам семейства хинолинат фосфорибозилтрансфераз

А. В. Лыхина

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Табак настоящий (*Nicotiana tabacum L*) является модельным объектом для изучения вторичных метаболитов — алкалоидов, необходимых для защиты от насекомых, патогенов и травоядных животных. На сегодняшний день известны ключевые гены, участвующие в биосинтезе алкалоидов табака. Одним из таких генов является ген хинолинат фосфорибозилтрансферазы 2 (*QPT2*), который произошел от гена первичного метаболизма *QPT1* в результате геномной дупликации. Ранее в лаборатории был проведен сайт-направленный мутагенез гена *QPT2 N. tabacum*, обнаружено, что полученные мутанты имеют серьезные отклонения в развитии. Возможно, ген *QPT2* частично сохраняет функцию участия в первичном метаболизме, и его нокаут негативно сказывается на жизнеспособности растения.

Цель данной работы — выяснение функции гена *QPT2* путем анализа мутантов по этому гену. Работа велась на трех независимо полученных линиях мутантов гену *QPT2* со схожим фенотипом. На основании информации базы данных NCBI были найдены последовательности генов семейства QPT в геноме табака. С помощью программы PerlPrimer подбирались специфичные праймеры для сайтов-мишеней, где ожидали обнаружить мутации. Для целевых локусов *QPT2* и гена *QPT1* в каждой линии растений-регенерантов было проведено секвенирование по Сэнгеру. Проведен анализ морфологических характеристик модифицированных растений при выращивании в лабораторных условиях. Дополнительно методом ацетокарминового окрашивания оценили фертильность пыльцы.

Мы обнаружили мутации в последовательностях генов, соответствующих локусам референсной последовательности гена *QPT2* во всех трех линиях мутантных растений. При анализе фенотипа растений, мутантных по гену *QPT2*, мы выявили такие признаки, как карликовость, уменьшение количества и размера листьев, лонгостилию, снижение фертильности пыльцы. Предварительно мы можем заключить, что ген *QPT2* необходим для нормального роста и развития растений *N. tabacum*, в том числе для формирования фертильных пыльцевых зерен.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. В. Герасимова

**Количество мРНК генов ферментов биосинтеза ретиноевой кислоты  
в мозге лисиц, селекционируемых по поведению**

Ю. В. Маковка

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Одной из структур мозга, участвующих в формировании поведения, является гиппокамп, что, вероятно, связано с процессами взрослого нейрогенеза, которые инициируются производной витамина А — политрансретиноевой кислотой (птРК). В недавних работах было показано, что уровень нейрогенеза в гиппокампе у взрослых ручных лисиц выше по сравнению с неселекционированными, так же как и уровень кДНК гена фермента деградации птРК *CYP26B1*. Исходя из этого можно предположить, что птРК имеет разную концентрацию у лисиц из разных поведенческих групп, что и может обуславливать разный уровень нейрогенеза. Следовательно, изменение системы метаболизма птРК под влиянием отбора на ручное поведение может быть одним из молекулярно-генетических механизмов доместикации, что подтверждается последними полногеномными сравнениями деревенских собак и волков.

Уровень птРК из-за малого количества измерить очень сложно, поэтому целью настоящей работы являлось исследование экспрессии генов *ALDH1A1*, *ALDH1A2* и *ALDH1A3*, кодирующих ферменты синтеза птРК, в дорзальной и вентральной частях гиппокампа и его оболочках у взрослых ручных и агрессивных лисиц с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени.

В дорзальном гиппокампе у ручных лисиц было выявлено достоверно низкое количество мРНК *ALDH1A1* по сравнению с неселекционированными ( $p = 0,015$ ). Также показано, что у ручных лисиц количество мРНК *ALDH1A1* достоверно выше, чем у агрессивных ( $p = 0,031$ ), а по сравнению с неселекционированными наблюдалось его повышение на уровне тенденции ( $p = 0,06$ ).

В связи с этим можно предположить, что большее количество мРНК *ALDH1A1* и, вероятно, его белка, в оболочках гиппокампа, по-видимому, приводит к синтезу большего количества птРК, а следовательно, к повышенной транскрипции гена *CYP26B1*. Таким образом, изменение системы птРК, вероятно, является одним из механизмов повышения уровня нейрогенеза у ручных лисиц.

Научный руководитель — канд. биол. наук Ю. Э. Гербек

**Локализация пигментов  
в зернах ячменя линий Bowman, i:BwB1p и i:BwAlm**

Л. В. Мовчан

Новосибирский государственный университет

Меланины — это особый класс пигментов растений, который часто выявляется в оболочках семян. Роль меланинов в жизни растений изучена слабо, однако их широкое распространение подразумевает функциональное значение. Предполагается, что меланины защищают растения от избыточного света, повышают устойчивость к заболеваниям, увеличивают прочность семенной кожуры.

Особый интерес для исследователей представляют недавно открытые меланопласты — новый тип пластид, который отвечает за синтез и накопление меланинов. В этом контексте высокую актуальность представляют работы по изучению связи меланогенеза с фотосинтезом, а также механизмов накопления и распределения меланинов в клетках растений.

В данной работе меланогенез изучался на модели зерен ячменя с использованием световой и флуоресцентной микроскопии. Целью работы являлось изучение клеточной локализации видимых пигментов в зернах меланинсодержащей, альбиносной и контрольной линий ячменя с черными, бесцветными и зелеными зернами соответственно, а также анализ распределения флуоресцентных сигналов хлорофилла и антител к белку PsbA (маркер мембран тилакоидов) на криосрезах зерен контрольной и экспериментальных линий.

Было показано, что на всех стадиях развития зерен клеточных структур с сигналом PsbA было гораздо больше, чем структур с сигналом PsbA и сигналом хлорофилла одновременно. Включения коричневого цвета наблюдались в зернах меланинсодержащей линии. При созревании зерен интенсивность автофлуоресценции хлорофилла последовательно уменьшалась. Сигнал PsbA выявлялся слабее, но не исчезал полностью. В зернах альбиносной линии подтверждалось наличие пластид при отсутствии хлорофилла. Полученные данные позволяют сделать выводы об отсутствии прямой связи между фотосинтезом и меланогенезом.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. Р. Мурсалимов

## **Применение метода single-cell Hi-C для анализа пространственной организации хромосом типа ламповых щеток**

А. Р. Нурисламов, А. К. Таскина  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Хромосомы типа ламповых щеток — это хромосомы гигантского размера, встречающиеся в оогенезе на стадии диплотены у ряда позвоночных животных, включая амфибий, рептилий и птиц. Несмотря на то что эти хромосомы были открыты еще в XIX веке, их хромомерно-петлевая организация до сегодняшнего времени остается малоизученной. Методы микроскопии и микродиссекционные исследования не позволяют с большой точностью изучить молекулярные механизмы, участвующие в формировании хромомерно-петлевых комплексов, а также точно картировать хромомеры и латеральные петли в масштабе всего генома. С целью исследования пространственной организации хромосом типа ламповых щеток нами был разработан протокол single-cell Hi-C для ядер ооцитов *Gallus gallus domesticus*.

Выделенные ядра были обработаны согласно разработанному протоколу, далее были приготовлены и секвенированы NGS-библиотеки Illumina. Полученные данные проанализировали биоинформационно и получили Hi-C карты. На картах контактов были визуализированы структуры с повышенной частотой внутренних контактов, предположительно соответствующие хромомерам на цитологических картах и микрофотографиях. Помимо этого, были обнаружены структуры, в ряде случаев совпадающие с латеральными петлями.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что метод single-cell Hi-C может быть применим для исследования пространственной организации хромосом типа ламповых щеток. Нам удалось идентифицировать некоторые домены хроматина, а также на основе полученных и существующих данных выдвинуть гипотезу о паттернах трехмерных контактов, характеризующих хромомерно-петлевые комплексы. В дальнейшем необходимо проведение FISH-исследований для верификации полученных результатов.

Научный руководитель — канд. биол. наук В.С. Фишман

**Роль H3K9- и H4K20-специфичных гистон-метилтрансфераз  
в инактивации отцовского генома в эмбриогенезе *Planococcus citri***

Я. А. Осипов

Новосибирский государственный университет

Геномный импринтинг — эпигенетический процесс, в результате которого активность генетического материала может изменяться в зависимости от его родительского происхождения. Установлено, что геномному импринтингу могут подвергаться гены, хромосомы или целые наборы хромосом, как в случае мучнистого червеца *Planococcus citri*.

У самцов этого вида на ранних этапах развития отцовский гаплоидный набор хромосом полностью гетерохроматинизируется, в то время как материнский остается в активном эухроматиновом состоянии. У самок оба набора хромосом остаются в активном состоянии. Стоит отметить, что у взрослых особей *P. citri* наблюдается явное проявление полового диморфизма. Это, вероятно, связано с различиями на ранних этапах эмбрионального развития, которые возникают в результате геномного импринтинга. Предполагается, что инактивация отцовского набора хромосом у самцов осуществляется за счет эволюционно консервативного каскада гетерохроматинизации H3K9me3:HP1: H4K20me3.

В результате биоинформационного анализа в геноме *P. citri* обнаружили 8 гомологов H3K9-специфичных гистон-метилтрансфераз (2 для *SetDB1*, 2 для *G9a*, 4 для *Su(var)3-9*) и 2 гомолога H4K20-специфичных гистон-метилтрансфераз (*Hmt4-20*). Выбранные гены также анализировали на наличие функциональных доменов.

После отбора генов осуществляли их инактивацию в эмбрионах на стадии предшествующей гетерохроматинизации отцовского генома в мужских эмбрионах. Оценку влияния инактивации генов осуществляли путем анализа изменений в соотношении эмбрионов с гетерохроматином и без него. В результате проделанной работы удалось установить, что инактивация одного из гомологов *SetDB1*, гомологов *Hmt4-20*, а также пары гомологов *Su(var)3-9* приводит к уменьшению доли эмбрионов, содержащих гетерохроматин. Полученные результаты свидетельствуют об участии этих генов в процессе геномного импринтинга у *P. citri*.

*Исследование поддержано грантом правительства РФ № 14.Y26.31.0024.*

Научный руководитель — канд. биол. наук С. Н. Белякин

**Идентификация тандемных повторов в геномах чешуйчатых**

А. В. Румянцев

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Чешуйчатые (Squamata) — это группа рептилий, геномы которых обладают рядом необычных характеристик, включая бимодальность кариотипов (четкое разделение на микро- и макрохромосомы), быструю эволюцию половых хромосом и систем определения пола при относительно высокой стабильности аутосом. Половые хромосомы так и не описаны у многих рептилий, несмотря на большой интерес со стороны ученых. Для быстрого выявления половых хромосом на малоизученных видах мы предлагаем использовать технологию, основанную на картировании повторенных последовательностей ДНК, которые часто являются видоспецифичными, но имеют тенденцию к накоплению на малорекомбинирующих половых хромосомах. Разработанная нами методика включает секвенирование генома с неполным покрытием, выявление тандемноорганизованных последовательностей и их локализацию в геноме. Так, мы проанализировали геномы одного вида ящериц (*Lacerta agilis*) и двух видов змей (*Pantherophis guttatus*, *Daboia russelii*) и выявили тандемноорганизованные последовательности, локализация которых позволила выявить половые хромосомы по крайней мере у одного из видов змей — *D. russelii*. Картирование перичентромерных повторов позволит исправить неточности в сборке хромосом *L. agilis*.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. В. А. Трифионов

## Распространение элиминации хромосом в клетках зародышевой линии у гибридов F1 пяти видов лягушек рода *Pelophylax*

С. С. Рюмин, С. А. Безлепкина

Санкт-Петербургский государственный университет

Гибридная стерильность — один из постзиготических репродуктивных барьеров, ограничивающих поток генов между разными видами. Тем не менее некоторые гибриды сохраняют способность к размножению за счет перехода к клональности. Модифицируя гаметогенез, такие гибриды предотвращают нарушения конъюгации хромосом в мейозе и формируют клональные гаметы. Гибридогенез — форма клонального наследования, при которой в клетках зародышевого пути происходит элиминация одного из родительских геномов и эндодупликация оставшегося.

Классическая модель для изучения гибридогенеза — съедобная лягушка *Pelophylax esculentus* — гибрид между озерной *P. ridibundus* (RR) и прудовой *P. lessonae* (LL) лягушками. Однако не известно, уникально ли гибридогенетическое наследование для комплекса *P. esculentus*, или же характерно и для других гибридов вне рамок этого комплекса видов?

Чтобы проверить способность геномов, близких к *P. ridibundus*, индуцировать элиминацию L-генома, а также способность R-генома вызывать элиминацию геномов, близких к *P. lessonae*, мы провели серию скрещиваний *P. ridibundus* и *P. lessonae* между собой и с *P. kurtmuelleri*, *P. epeiroticus* и *P. shqipericus*. В гонадах головастиков проводили учет микроядер и случаев нетипичного положения хромосом в мета- и анафазах. Для идентификации геномных композиций ядер гоноцитов и видовой принадлежности хромосом в микроядрах мы провели 3D-FISH.

Мы показали, что у *P. esculentus* элиминация L-генома происходит даже в первом поколении. В неспецифических скрещиваниях элиминация редка либо не наблюдалась, а в зародышевых клетках присутствуют оба генома. Элиминация генома — редкое явление, которое зависит от предрасположенностей обоих геномов. Способность к элиминации, позволившая переход к гибридогенезу, возникла только у *P. esculentus*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 20-74-00030 с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и «Обсерватория экологической безопасности».*

Научный руководитель — канд. биол. наук Д. В. Дедух

**Влияние нарушения экспрессии липина  
на ультраструктурную динамику ядерной оболочки  
в делящихся клетках культур *Drosophila melanogaster***

С. С. Сайдакова

Институт молекулярной и клеточной биологии, Новосибирск  
Институт цитологии и генетики, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Сборка и разборка мембран в клетке контролируются множеством белков, потеря функции каждого из которых может приводить к аномалиям и затруднению прохождения митоза. В 2018 году мы обнаружили аномальное взаимодействие ядерной оболочки и ЭПР на стадии прометафазы с образованием четырехслойных мембран в клетках *D. melanogaster* линии S2. Подобная ультраструктура была описана ранее у эмбрионов *C. elegans* при дисфункции липина — фермента, участвующего в биосинтезе липидов. Мы предположили, что причина нарушений в клетках S2 также может состоять в пониженном уровне синтеза липина.

Цель работы: изучение влияния липина на ультраструктурную динамику внутриклеточных мембран в делящихся клетках культур *D. melanogaster*. В качестве объекта исследования были выбраны две линии *D. melanogaster*: S2 и Kc167, имеющие одинаковое происхождение, но в клетках Kc167, в отличие от S2, не описано четырехслойных мембран.

Мы провели сравнительный ультраструктурный анализ делящихся клеток S2 и Kc167, а также измерили уровень экспрессии липина в каждой из линий методом количественной ПЦР в реальном времени. Показано, что экспрессия липина в S2 относительно Kc167 действительно снижена практически в три раза. Для уточнения роли липина в формировании четырехслойных мембран мы снизили его экспрессию в клетках Kc167 РНК-интерференцией и исследовали методом ПЭМ. Поскольку четырехслойных мембран не было обнаружено, можно предположить, что либо необходимо исследовать большее количество материала, либо период жизни липина составляет гораздо большее время, чем действие РНК-интерференции. Соответственно, для уточнения функции этого белка стоит использовать другие методы понижения экспрессии генов.

*Работа выполнена при поддержке гранта Министерства высшего образования и науки РФ № 2019-0546 (FSUS-2020-0040).*

Научный руководитель — канд. биол. наук К. Н. Морозова

**Анализ экспрессии гена *MAKR6* в корне *Arabidopsis thaliana* L.**

А. Д. Сидоренко, А. Л. Коростелёва  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Фитогормон ауксин регулирует большинство важнейших процессов в организме растений. Ауксин-зависимая транскрипция генов определяется взаимодействием транскрипционных факторов семейства AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF) с регуляторными последовательностями генов. В ходе анализа индуцированных ауксином транскриптомов была установлена чувствительность к ауксину гена *MAKR6*, относящегося к семейству *MEMBRANE-ASSOCIATED KINASE REGULATOR (MAKR)*. Белки семейства MAKR гомологичны белку BRASSINOSTEROID KINASE INSENSITIVE 1 (BK11), участвующему в регуляции сигнального пути гормонов брассиностероидов. На данный момент функции большинства белков семейства MAKR уже известны, но функции MAKR6 пока не изучены. Целью нашей работы является исследование паттерна экспрессии гена *MAKR6* и механизмов его регуляции ауксином, что может способствовать пониманию функций этого гена.

В промоторе *MAKR6* был предсказан регуляторный модуль, содержащий сайты связывания транскрипционных факторов ARF. Для изучения экспрессии гена *MAKR6* в корне в нашей лаборатории были получены путем агробактериальной трансформации репортерные линии *Arabidopsis thaliana pMAKR6:GFP*, в которых белок GFP экспрессируется под интактным промотором *pMAKR6*. Путем отбора на канамицине мы получили гомозиготные линии, содержащие единственную вставку репортерной конструкции, и провели анализ паттерна экспрессии с использованием флуоресцентной микроскопии на трехдневных проростках без обработки и после обработки 1 мкМ альфа-нафтилуксусной кислотой — синтетическим аналогом ауксина. Уровень экспрессии оценивали по изображениям с помощью программы ImageJ, а также с помощью количественной ОТ-ПЦР.

Таким образом, были описаны локализация и изменение паттерна экспрессии *MAKR6* в корнях трехдневных проростков и их изменение в ответ на обработку ауксином.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Землянская

## **Частота и распределение ранних и поздних рекомбинационных узелков у домашней курицы**

А. Ю. Слободчикова

Новосибирский государственный университет

Мейотическая рекомбинация — генетический процесс, который вносит существенный вклад в фенотипическую и генетическую изменчивость. Ключевую роль в рекомбинации играют особые нуклеопротеидные структуры — рекомбинационные узелки. В зависимости от размера и белкового состава выделяют два типа рекомбинационных узелков — ранние и поздние. Механизм рекомбинации и белковый состав рекомбинационных узелков схож у позвоночных, однако птицы отличаются повышенным уровнем рекомбинации. Он может обеспечиваться двумя путями: повышением числа двуцепочечных разрывов, репарация которых приводит к рекомбинации, или увеличением частоты репарации по кроссоверному пути. Мы проанализировали частоту и распределение основных белков, входящих в состав рекомбинационных узелков (RAD51, RPA и MLH1) у домашней курицы с помощью метода иммулокализации на стадиях зиготены-пахитены.

Исследования локализации с антителами к RAD51 показывают, что белок присутствует как на асинаптированных участках во время зиготены и ранней пахитены, так и на синаптонемных комплексах (СК) в поздней пахитене. Сигналы присутствуют вдоль большинства СК, однако некоторые из бивалентов, завершивших синапсис, по-видимому, уже потеряли все или большую часть сигналов RAD51. Иммулокализация RPA показала, что на раннем этапе белок наблюдается преимущественно на участках СК синаптирующих хромосом и почти не наблюдается на асинаптированных. Число сигналов MLH1, определенных с помощью иммулокализации, в среднем составило 65 на клетку. Анализ данных показал, что соотношение числа RPA к MLH1 на стадии средней-поздней пахитены у птиц выше в два раза, чем у млекопитающих, что свидетельствует о повышенной частоте репарации по кроссоверному пути.

Таким образом, в работе нам удалось исследовать количественные и качественные характеристики основных мейотических белков, а также сделать вывод о том, за счет чего достигается высокая эффективность рекомбинации у птиц.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. П. М. Бородин

## Геномное картирование точки разрыва фиксированной инверсии в X хромосоме *Anopheles messeae*

Е. С. Соболева

Томский государственный университет

Малярийные комары рода *Anopheles* являются переносчиками возбудителей малярии, филяриозов и некоторых других заболеваний. Благодаря адаптивной пластичности они смогли приспособиться к обитанию в различных климатических и природных зонах. Мы полагаем, что механизмы, ответственные за адаптацию комаров, могут определяться генами вблизи точек разрывов фиксированных и полиморфных хромосомных инверсий, широко распространенных у комаров.

*An. messeae* обитает в умеренном климатическом поясе Европы и Сибири. Филогенетически близкая гомосеквентная группа *An. maculipennis*, *An. melanoon* и *An. artemievi* обитает в сравнительно более мягком климате Европы и Средней Азии. Кариотип *An. messeae* XL1, 2R0, 3R0, 3L0 отличается от представителей этой группы только двумя вложенными инверсиями в X хромосоме (1B-4A и 1B-3C по карте *An. atroparvus*). Целью настоящей работы было провести геномное картирование и описать точки разрыва фиксированных инверсий в X хромосоме *An. messeae* на физической карте генома *An. atroparvus*.

Точки разрывов инверсий картировали *in situ* гибридизацией разработанных генспецифичных ДНК-зондов с хромосомами XL1 *An. messeae* (геном *An. atroparvus* выбран в качестве референса для зондов).

В результате «хромосомной ходьбы» с точностью около 7 тыс. п. н. определили положение точки разрыва инверсии 1B-4A (X: 1,458,880–1,466,981). Там обнаружены транспозоны *TsessebeII* и *Mariner-N22* (суперсемейство *Tc1-Mariner*), и два транспозона *Helitron2* из семейства *Helitrons*. В окрестностях 100 тыс. п. н. относительно точки разрыва расположено семь генов, в том числе *AATE011784*, задействованный в TOR-сигнальном пути и контролирующий внутриклеточные процессы, а также *AATE000352*, участвующий в трансмембранном транспорте аминокислот. По-видимому, одна из точек разрыва инверсии 1B-4A находится в окружении генов «домашнего хозяйства», связь которых с адаптивной пластичностью оценить сложно. Все четыре точки разрыва инверсий расположены в районах с плотностью генов, не отличающейся от средней по X-хромосоме, либо в обогащенных генами.

Научный руководитель — канд. биол. наук Г. Н. Артемов

**Создание клеточной модели *in vitro* на основе ИПСК для исследования болезни Паркинсона, вызванной мутацией в гене GBA**

Д. А. Сорогина, Е. С. Дроздова, О. И. Пилицкая  
Новосибирский государственный университет

Болезнь Паркинсона — нейродегенеративное заболевание, поражающее дофаминергические нейроны, может быть вызвано мутациями в различных генах. Одним из них является ген GBA, мутации в котором приводят к снижению активности лизосомного фермента глюкоцереброзидазы, участвующего в деградации сфинголипидов. Это способствует патологической модификации  $\alpha$ -синуклеина, агрегаты которого обладают нейротоксичностью.

В последнее время перспективным методом исследований является создание клеточных моделей на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), из которых при направленной дифференцировке можно получить различные типы клеток, в том числе и дофаминергические нейроны. Этот метод удобен, так как не требует хирургического вмешательства в организм пациента для получения пациент-специфических дофаминергических нейронов, необходимых для исследования болезни Паркинсона.

ИПСК были получены с помощью трансфекции набором эписомных векторов, кодирующих факторы плюрипотентности (OCT4, KLF4, L-MYC, SOX2, LIN28 и Trp53), мононуклеарных клеток, выделенных из крови пациентов. Подтверждена плюрипотентность полученных линий клеток с помощью иммуногистохимического выявления щелочной фосфатазы, иммунофлуоресцентного окрашивания и qPCR на маркеры плюрипотентности. Кроме этого, было доказано наличие мутации в гене GBA в полученных ИПСК.

После направленной дифференцировки ИПСК были получены пациент-специфические дофаминергические нейроны. Таким образом была создана клеточная модель для исследования болезни Паркинсона, вызванной мутацией в гене GBA *in vitro*.

*Работа поддержана грантом РФФИ 19-29-04011 мк.*

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. В. Григорьева

**Влияние трехмерной организации хроматина на уровень экспрессии генов *Slc29a3* и *Unc5b***

Я. К. Степанчук, А. П. Ян  
Новосибирский государственный университет

Известно, что хроматин в интерфазном ядре пространственно организован в топологически ассоциированные домены (ТАДы). Они представляют собой петли хроматина, сформированные при участии белкового комплекса когезина и ограниченные конвергентно направленными сайтами связывания белка CTCF. Считается, что хроматиновые петли обеспечивают пространственное взаимодействие регуляторных элементов генома. Можно предположить, что нарушения структуры ТАДа приведут к изменению экспрессии гена внутри него.

В порядке проверки выдвинутой гипотезы для измерения уровня экспрессии генов *Slc29a3* и *Unc5b* в разных органах и тканях были взяты мыши линии dM1R1, несущие делецию двух из шести сайтов связывания CTCF на границе между генами *Slc29a3* и *Unc5b* (геномные координаты удаленного участка: chr10:60755585-60761088, mm10) и линии dM1R1L2M2, несущие делеции четырех из шести сайтов связывания CTCF, ранее полученные в лаборатории.

Определение уровня экспрессии генов проводилось с помощью метода количественной ПЦР. В рамках работы была выделена РНК и измерены уровни экспрессии генов *Slc29a3* и *Unc5b* в семенниках, сердце, печени, почках, легких, селезенке и нескольких структурах головного мозга. Изменения экспрессии оказались разнонаправленными: наблюдалось как увеличение, так и снижение уровня экспрессии в сравнении с экспрессией генов в соответствующих органах у особей дикого типа. В некоторых органах экспрессия не менялась или менялась незначительно. Полученные результаты могут быть объяснены тем, что нарушения нативной пространственной структуры хроматина приводят к изменениям взаимодействий между регуляторными элементами — как активаторных, так и репрессорных, задействованных в регуляции экспрессии в том или ином типе клеток.

Научный руководитель — канд. биол. наук В. С. Фишман

**Использование гена  $\beta$ -CA5 в качестве мишени  
для РНК-интерференции у *Arabidopsis thaliana***

А. В. Урин

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

В аграрном производстве долгое время для борьбы с вредными биологическими факторами, такими как насекомые или вирусы, используют химические вещества. При этом они часто не обладают селективностью, а также наносят сильный вред окружающей среде.

В качестве избирательной альтернативной технологии можно использовать РНК-интерференцию факторов вирулентности у патогенов и в особенности факторов восприимчивости у культурных растений. Работы по доставке дцРНК в клетки растений в условиях производства имеют большую ценность, но занимают долгое время, в том числе и из-за затянутого фенотипического ответа основных модельных генов, используемых для РНК-интерференции сейчас.

Мы предлагаем использовать бета-карбоангидразу 5 ( $\beta$ -CA5) в качестве модельного гена, позволяющего фиксировать сайленсинг в течение двух недель, вместо характерных 4–5 недель для гена фитоендесатуразы. Показано что продукт  $\beta$ -CA5 локализован в тилакоидах хлоропластов, а мутанты по этому гену имеют меньший размер, чем в растениях дикого типа, благодаря чему мы выбрали его в качестве модельного.

Подобраны праймеры для получения целевого ПЦР продукта длиной 550 п. н., который затем клонировался в рTRV2-вектор. Используя метод вирус-индуцированного генного сайленсинга (VIGS), мы планируем подавить экспрессию гена  $\beta$ -CA5, что должно привести к карликовости растения в случае успешного выключения карбоангидразы. Этот фенотип легко определяется внешним осмотром, не требует глубокого молекулярного анализа и позволяет отрабатывать новые методы доставки дцРНК в растения, такие как опрыскивание или поливание раствором дцРНК.

В качестве подтверждения того, что именно сайленсинг гена  $\beta$ -CA5 привел к этому фенотипу, будет проведена количественная ПЦР в реальном времени с контролем в виде нескольких генов домашнего хозяйства.

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. С. Голубева

**РНК-интерференция гена фитоендесатуразы при помощи дцРНК, синтезированных *in vivo***

В. А. Черенко

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет

Для защиты растений активно используются химические соединения, потенциально опасные для здоровья человека и других организмов, поэтому существует необходимость поиска новых, более экологичных способов защиты растений от патогенов. Одним из таких подходов является РНК-интерференция с помощью молекул дцРНК, синтезированных *in vivo* и *in vitro*.

Показано, что экзогенные РНК способны подавлять синтез белка на уровне трансляции у растений или их патогенов, также экзогенные дцРНК являются перспективными агентами для регуляции генов растений. Но возникает проблема доставки этих препаратов к выбранной мишени. Для ее решения продолжают разрабатываться новые подходы.

Целью настоящей работы является разработка метода синтеза дцРНК *in vivo* для регуляции работы генов табака *Nicotiana benthamiana* с помощью РНК-интерференции, а также исследование способа доставки дцРНК при помощи корневой обработки. В качестве гена-мишени выбран ген фитоендесатуразы, сайленсинг которого демонстрирует фенотип фотообесцвечивания молодых листьев.

Для наработки дцРНК мы разработали методику, позволяющую выделять большие количества целевой фракции дцРНК из лизата *E. coli* с использованием ультразвука.

Была проведена индукция сайленсинга гена фитоендесатуразы на модельных растениях *N. benthamiana* с применением грубого лизата бактерий, корневая обработка была выбрана в качестве простого и доступного способа внесения дцРНК. Обработка растений проводилась 3 раза в неделю в течение 4 недель. По истечению 4 недель обработки молодые листья *N. benthamiana*, обработанные лизатом бактерий со вставкой фрагмента гена фитоендесатуразы, демонстрировали фенотипы фотообесцвечивания, характерные для сайленсинга выбранного гена.

Полученные результаты подтверждают перспективность разработанного нами подхода по наработке и доставке дцРНК при защите растений от патогенов в сельском хозяйстве.

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. С. Голубева

**Оценка функционирования нуклеаз SpCas9 и AsCpf1 (Cas12a)  
в клетках HEK293 в районах хроматина  
с разным функциональным статусом**

Л. Ш. Шаяхметова  
Новосибирский государственный университет

Применение CRISPR-опосредованных программируемых искусственных нуклеаз является одним из ключевых методов геномного редактирования. Традиционно используют нуклеазу SpCas9, которая, несмотря на высокую эффективность, проявляет значительный уровень нецелевой активности. Другая CRISPR-ассоциированная система, AsCpf1 (Cas12a), является более специфичной и способствует эффективному процессу гомологичной рекомбинации за счет выступающих 5' концов ДНК, образующихся при гидролизе нуклеазой. Однако имеются свидетельства, что AsCpf1 недостаточно активна в районах компактного хроматина.

Чтобы сравнить работу нуклеаз SpCas9 и AsCpf1 в районе активного и неактивного хроматина клеток HEK293, мы выбрали локус доступного хроматина Safe harbor на 1 хромосоме и район гена кардиального белка MYBPC3, который не экспрессируется в HEK293. Были подобраны специфические протоспейсеры в целевых районах и клонированы в соответствующие плазмиды, кодирующие SpCas9 (pX458) и AsCpf1 (pAsCpf1(TYCV) (BB), pAsCpf1-2NLS). С помощью липофектамина была проведена временная трансфекция плазмид в клетки HEK293. Через 48 часов после внесения векторов была выделена геномная ДНК клеток HEK293, целевые районы амплифицированы и секвенированы. Полученные данные проанализированы с помощью алгоритма TIDE. Было показано, что нуклеаза SpCas9 редактирует районы как активного, так и неактивного хроматина. AsCpf1 редактирует только район Safe harbor.

*Работа поддержана РФФИ и Новосибирской областью, номер проекта 19-44-540002 p\_a.*

Научные руководители —  
канд. биол. наук С. В. Павлова, канд. биол. наук С. П. Медведев

## Цитомиксис в интактных мейоцитах ржи

Д. С. Шершнёва

Новосибирский государственный университет

Цитомиксис — это процесс миграции ядер из одной растительной клетки в другую через межклеточные каналы особого типа. Наиболее часто цитомиксис встречается в мужском мейозе высших растений. Данный процесс интересен из-за слабо изученных клеточных механизмов, обеспечивающих миграцию ядер, а также из-за возможного участия цитомиксиса в формировании анеуплоидной и нередуцированной пыльцы.

Значительным препятствием в изучении цитомиксиса является отсутствие подходящих методов анализа. Общепринятые техники предполагают механическое воздействие на мейоциты в ходе их подготовки к анализу, что приводит к разрушению большинства межклеточных каналов. Таким образом, существует необходимость в поиске новых методов изучения цитомиксиса.

Для решения этой проблемы мы разработали два новых подхода для изучения интактных мейоцитов растений. В качестве модельного объекта были использованы растения ржи (*Secale cereale*). Метод иммуноокрашивания целых органов в сочетании с конфокальной лазерной сканирующей микроскопией позволил специфически окрасить хроматин мейоцитов внутри пыльников ржи и впервые наблюдать цитомиксис внутри целого пыльника растений. Другой разработанный подход, включающий жесткую фиксацию и рутинное окрашивание, позволил выделять все мейоциты из пыльника в виде единого столбика интактных клеток, которые анализировались с помощью конфокального микроскопа в проходящем свете.

Оба подхода были разработаны и впервые применены для анализа цитомиксиса в пыльниках растений. Было показано, что реальная частота цитомиксиса в мейозе ржи значительно превышает ту, что можно наблюдать с использованием стандартных методов цитологического анализа. Разработанные подходы имеют большое значение для изучения цитомиксиса и других аспектов мужского мейоза высших растений.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. Р. Мурсалимов

## Сравнительное исследование скорости прорастания и динамики роста безпроантоцианидиновых мутантов ячменя и их родителей

М. В. Шишкина

Новосибирский государственный университет

Проантоцианидины представляют собой олигомерные флавоноидные соединения, относящиеся к классу растительных полифенолов. Накапливаясь в оболочках семян, они играют важную роль в защите зародыша от различных видов стресса, выполняют физиологические функции, в частности участвуют в развитии семян. Наличие проантоцианидинов в оболочке семян тесно связано с продолжительностью покоя семени. Так, всхожесть свежесобранных семян безпроантоцианидиновых мутантов арабидопсиса намного выше в сравнении с их дикими экотипами. Несмотря на важное физиологическое значение проантоцианидинов для растений, их отсутствие в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.) является ценным сельскохозяйственным признаком. В частности, показано негативное влияние проантоцианидинов на усвоение корма и набор массы у сельскохозяйственной птицы, а из-за способности связывать белки и вызывать коллоидное помутнение пива, эти соединения нежелательны в пивоваренных сортах ячменя. Выявление рецессивных аллелей генов, контролирующих синтез проантоцианидинов и имеющих наименьшее влияние на рост и развитие растений ячменя, является актуальной задачей.

Ген ячменя *Ant13* кодирует транскрипционный фактор, отвечающий за активность по крайней мере трех генов биосинтеза флавоноидов. Рецессивные мутации в этом гене обуславливают отсутствие антоциановой пигментации в вегетативных органах и проантоцианидинов в зерне. Целью работы являлось изучение влияния рецессивной мутации в локусе *Ant13* на прорастание зерна ячменя и его скорость роста.

В ходе эксперимента не было выявлено явных отличий между мутантом *ant13.13* и родительским сортом Foma по количеству проросших семян, семян с листом и корнями. Полученные данные указывают на то, что отсутствие проантоцианидинов в зерне ячменя не влияет на скорость прорастания. В то же время показано замедление роста корней и листа у мутанта по сравнению с родительским сортом Foma, что может быть связано с отрицательным влиянием мутации *ant13.13* на развитие растений ячменя.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. Ю. Шоева

**Частота аллелей 2R, 4R и 7R VNTR гена *DRD4* среди подростков, рожденных в разные периоды конца XX века**

Е. А. Юшкевич

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Россия пережила социально-экономический кризис в 1990-х годах, который повлиял на репродуктивное поведение населения в этот период. Показано, что тревожные расстройства и связанные с ними заболевания имеют наследственную основу, однако триггером их возникновения часто являются стрессовые ситуации. Для ряда генов доказана ассоциация со стресс-индуцированными нарушениями, один из них — *DRD4*, кодирующий дофаминовый рецептор D4. Он экспрессируется в клетках мозга и определяет чувствительность определенных групп нейронов к «веществу удовольствия» — дофамину. Так называемый «длинный» аллель 48-нуклеотидный VNTR в экзоне 3 этого гена ассоциирован со склонностью людей к поиску новых впечатлений, импульсивностью и гиперактивностью. С помощью полимеразной цепной реакции были генотипированы по аллелям гена *DRD4* 683 образцов ДНК подростков, рожденных в 1980-х, 1990-х и 2000-х годах. В общей выборке частота аллеля 4R составила 0,753, аллеля 7R — 0,094, аллеля 2R — 0,078. Среди подростков, рожденных в 1980-е частоты аллелей составили 0,732 (4R), 0,064 (7R) и 0,073 (2R); у подростков 1990-х годов рождения — 0,755 (4R), 0,074 (7R) и 0,070 (2R); у подростков 2000-х годов рождения — 0,760 (4R), 0,114 (7R) и 0,082 (2R). Частота «длинного» аллеля 7R имела тенденцию к росту в выборке, различия между выборками 1980 и 2000-х годов рождения были достоверны ( $p = 0,013$ ) Это может быть связано как с репродуктивным поведением носителей длинных аллелей гена *DRD4* в этот период, так и отличающейся частотой данного аллеля в поколении родителей обследованных подростков (являющихся в свою очередь детьми людей, рожденных в период Второй Мировой войны). Для окончательных выводов необходим анализ расширенных выборок, а также других полиморфизмов генов, ассоциированных со стрессом.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. В. Михайлова

## Указатель авторов

Changalidi A. I.....	23	Брикунова О. Я.....	109
Dikaya V. A.....	23	Букаев М. С.....	7
Kapitonova A. A.....	23	Булгаков Н. А.....	63
Ochkalova S. D.....	23	Бурлаченко А. С.....	29
Petrenko E. E.....	23	Васильева Е. О.....	105
Polyakov F. M.....	23	Вензель А. С.....	8
Агеенко А. Б.....	55	Викторина О. Е.....	64
Адонина С. Н.....	103	Виноградова А. В.....	95
Акунеева М. С.....	47	Владимирова Е. В.....	139
Александров Е. А.....	5	Волегов Г. А.....	66, 75
Алиев Т. И.....	137	Волянская А. Р.....	9
Антонова Е. Е.....	149	Вылекжанина Е. Н.....	110
Арбузов Г. Д.....	56	Гамбург Т. А.....	67
Арефьева А. Б.....	57	Гартвих С. А.....	111
Артемченко А. С.....	120	Гильд Э.-Я. В.....	112
Артемьева А. С.....	58	Голосова Н. Н.....	39
Афонюшкин А. В.....	104	Горяинова А. В.....	113
Ахметова М. М.....	60	Григорьева Ю. Д.....	114
Ахраменко Е. А.....	105	Гришко Е. О.....	140
Базарова Э. Л.....	138	Гудим А. А.....	30
Балданова С. Ц.....	24	Данилова Е. Д.....	31
Баранова А. А.....	25	Дегтярева А. О.....	137
Батлук У. И.....	94	Дерюженко М. А.....	10
Безлепкина С. А.....	156	Диеспиров Г. П.....	115
Безручко М. В.....	134	Долгова Е. В.....	78
Безручко М. В.....	106	Дроздова Е. С.....	161
Бекенёва К. А.....	126	Друзьяка О. Р.....	32
Белаш Е. А.....	61	Еврейская А. А.....	141
Белокопытова И. И.....	107, 123	Елгина И. Д.....	116
Белокопытова П. С.....	11	Ельсукова А. С.....	11
Белоусова И. А.....	132	Ефстифеева С. С.....	33
Бердникова А. А.....	26	Жибурт А. К.....	142
Берестень С. А.....	27	Жолобова А. А.....	47
Билик В. Б.....	108	Заварзин Е. А.....	12, 117
Бирюков М. М.....	62	Зубкова А. Е.....	143
Боброва Т. А.....	109	Иванов А. А.....	68
Богачев С. С.....	78	Иванова Е. С.....	144
Бондаренко С. С.....	28	Изотова Г. В.....	34
Бочарникова М. Е.....	6	Изъюров А. Е.....	118
		Каминская Я. П.....	119

Кардашевская К. В. ....	35	Николаев Т. П. ....	42
Карелина У. А. ....	69	Николайчук К. М. ....	126
Каретников Д. И. ....	13	Норбоева С. Б. ....	24
Кисаретова П. Э. ....	81	Носальская З. К. ....	127
Клементьева Т. Н. ....	120	Нурисламов А. Р. ....	153
Князева А. В. ....	145	Орешко А. С. ....	128
Коваленко С. Д. ....	117	Осипов Я. А. ....	154
Козина Е. А. ....	25	Осорова Т. Д. ....	43
Козырева С. Ю. ....	36	Павлушин С. В. ....	132
Кокшарова Г. С. ....	146	Патракова Е. А. ....	62
Коложвари А. Э. ....	147	Петров Г. О. ....	77
Коломейчук Л. В. ....	70	Петрова Д. Д. ....	78
Колосова Е. А. ....	64	Пеунов Д. А. ....	129
Константинова А. В. ....	14	Пешкова С. А. ....	44
Коренская А. Е. ....	15	Пилицкая О. И. ....	161
Коростелёва А. Л. ....	148, 158	Политко М. О. ....	88
Корюков М. А. ....	71	Приступин Д. С. ....	47
Корякина Н. К. ....	37	Прокопович А. К. ....	45
Косман Е. С. ....	120	Прохорова Д. В. ....	92
Костыря М. Т. ....	127	Пьянков С. А. ....	100
Крикливая Н. П. ....	121	Раззорова Е. А. ....	79
Кузеина И. М. ....	122	Рахманова Т. А. ....	80
Кучарова Е. В. ....	149	Риттер Г. С. ....	81
Кучумов М. С. ....	38	Романенко М. В. ....	78
Лемза А. Е. ....	94	Руднева Н. Г. ....	132
Леонова В. И. ....	39	Рудометов Ю. П. ....	82
Лишай Е. А. ....	72	Рузанова В. С. ....	81, 83
Лыхина А. В. ....	150	Румянцев А. В. ....	155
Маковка Ю. В. ....	151	Рыбаков М. А. ....	19
Мартемьянов В. В. ....	132	Рюмин С. С. ....	156
Мартюшева Т. А. ....	16	Савина Е. С. ....	84
Маслов Р. Д. ....	73	Савостьянова Т. А. ....	85
Матросова Е. А. ....	17	Сайдакова С. С. ....	157
Милутинович К. С. ....	123	Саковина Л. В. ....	86
Минкевич М. М. ....	18	Северина В. А. ....	87
Мовчан Л. В. ....	152	Сивцева С. В. ....	130
Морозова Е. Е. ....	74	Сидоренко А. Д. ....	158
Москалюк В. С. ....	124	Сидорова М. В. ....	95
Моторина Д. М. ....	66, 75	Скотникова А. К. ....	131
Муслиенко И. Е. ....	76	Слободчикова А. Ю. ....	159
Мутовина А. С. ....	125	Соболева Е. С. ....	160
Мухаматдинова Е. А. ....	40	Соколов Д. К. ....	88
Назарова А. П. ....	41	Солодков П. П. ....	89

Сорогина Д. А. ....	161	Хованский А. С. ....	95
Спиридонова А. В. ....	43	Чальшева А. Е. ....	106
Степанова М. В. ....	47	Чальшева А. Е. ....	134
Степанчук Я. К. ....	162	Черенко В. А. ....	164
Субботина А. О. ....	132	Четвертак Е. В. ....	117
Сухинина Е. В. ....	90	Чиглинцева Д. А. ....	96
Сысова М. Б. ....	95	Чурина Т. С. ....	97
Тарасенко А. А. ....	91	Шамина Ю. К. ....	22
Таскина А. К. ....	153	Шаповал А. И. ....	64
Толоконникова Х. П. ....	46	Шарин Г. Г. ....	52
Толстихина Д. В. ....	47	Шаяхметова Л. Ш. ....	165
Толстова П. О. ....	92	Шелест Е. О. ....	98
Туркин А. В. ....	95	Шершнёва Д. С. ....	166
Тяпкин А. В. ....	20	Шефер А. А. ....	99
Убогоева Е. В. ....	22	Шипилова Е. А. ....	135
Ужогова А. А. ....	48	Шишкина М. В. ....	167
Укладов Е. О. ....	68	Шокурова А. В. ....	53
Урин А. В. ....	163	Шульгина И. С. ....	100
Усольцев Н. В. ....	49	Щербаков Д. Н. ....	64
Уткин Я. А. ....	93	Эннс К. В. ....	54
Ушаков В. С. ....	88	Юрина А. А. ....	101
Фёдорова Ю. А. ....	99	Юсупова Д. И. ....	136
Федотова М. С. ....	126	Юшкевич Е. А. ....	168
Федотовская В. Д. ....	21	Юшкова А. А. ....	99
Феттер Г. В. ....	50	Яковлев А. В. ....	102
Фрол Ю. Е. ....	133	Ян А. П. ....	162
Фролова Д. А. ....	94		
Хабытчарова А. Г. ....	51		

## СОДЕРЖАНИЕ

### БИОИНФОРМАТИКА

Александров Е. А. ....	5
Бочарникова М. Е. ....	6
Букаев М. С. ....	7
Вензель А. С. ....	8
Волянская А. Р. ....	9
Дерюженко М. А. ....	10
Ельсукова А. С., Белокопытова П. С. ....	11
Заварзин Е. А. ....	12
Каретников Д. И. ....	13
Константинова А. В. ....	14
Коренская А. Е. ....	15
Мартюшева Т. А. ....	16
Матросова Е. А. ....	17
Минкевич М. М. ....	18
Рыбаков М. А. ....	19
Тяпкин А. В. ....	20
Федотовская В. Д. ....	21
Шамина Ю. К., Убогоева Е. В. ....	22
Changalidi A. I., Kapitonova A. A., Petrenko E. E., Polyakov F. M., Dikaya V. A., Ochkalova S. D. ....	23

### ЭКОЛОГИЯ

Балданова С. Ц., Норбоева С. Б. ....	24
Баранова А. А., Козина Е. А. ....	25
Бердникова А. А. ....	26
Берестень С. А. ....	27
Бондаренко С. С. ....	28
Бурлаченко А. С. ....	29
Гудим А. А. ....	30
Данилова Е. Д. ....	31
Друзьяка О. Р. ....	32
Ефстифеева С. С. ....	33
Изотова Г. В. ....	34
Кардашевская К. В. ....	35
Козырева С. Ю. ....	36

Корякина Н. К.	37
Кучумов М. С.	38
Леонова В. И., Голосова Н. Н.	39
Мухаматдинова Е. А.	40
Назарова А. П.	41
Николаев Т. П.	42
Осорова Т. Д., Спиридонова А. В.	43
Пешкова С. А.	44
Прокопович А. К.	45
Толоконникова Х. П.	46
Толстихина Д. В., Степанова М. В., Жолобова А. А., Приступин Д. С., Акунеева М. С.	47
Ужогова А. А.	48
Усольцев Н. В.	49
Феттер Г. В.	50
Хабытчарова А. Г.	51
Шарин Г. Г.	52
Шокурова А. В.	53
Эннс К. В.	54

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Агеенко А. Б.	55
Арбузов Г. Д.	56
Арефьева А. Б.	57
Артемяева А. С.	58
Ахметова М. М.	60
Белаш Е. А.	61
Бирюков М. М., Патракова Е. А.	62
Булгаков Н. А.	63
Викторина О. Е., Колосова Е. А., Шаповал А. И., Щербаков Д. Н.	64
Волегов Г. А., Моторина Д. М.	66
Гамбург Т. А.	67
Иванов А. А., Укладов Е. О.	68
Карелина У. А.	69
Коломейчук Л. В.	70
Корюков М. А.	71
Лишай Е. А.	72
Маслов Р. Д.	73
Морозова Е. Е.	74
Моторина Д. М., Волегов Г. А.	75
Мусяенко И. Е.	76

Петров Г. О. ....	77
Петрова Д. Д., Романенко М. В., Долгова Е. В., Богачев С. С. ....	78
Раззоренова Е. А. ....	79
Рахманова Т. А. ....	80
Ритгер Г. С., Кисаретова П. Э., Рузанова В. С. ....	81
Рудометов Ю. П. ....	82
Рузанова В. С. ....	83
Савина Е. С. ....	84
Савостьянова Т. А. ....	85
Саковина Л. В. ....	86
Северина В. А. ....	87
Соколов Д. К., Политко М. О., Ушаков В. С. ....	88
Солодков П. П. ....	89
Сухинина Е. В. ....	90
Тарасенко А. А. ....	91
Толстова П. О., Прохорова Д. В. ....	92
Уткин Я. А. ....	93
Фролова Д. А., Лемза А. Е., Батлук У. И. ....	94
Хованский А. С., Виноградова А. В., Сысова М. Б., Сидорова М. В., Туркин А. В. ....	95
Чиглинцева Д. А. ....	96
Чурина Т. С. ....	97
Шелест Е. О. ....	98
Шефер А. А., Фёдорова Ю. А., Юшкова А. А. ....	99
Шульгина И. С., Пьянков С. А. ....	100
Юрина А. А. ....	101
Яковлев А. В. ....	102

## ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Адонина С. Н. ....	103
Афонюшкин А. В. ....	104
Ахраменко Е. А., Васильева Е. О. ....	105
Безручко М. В., Чалышева А. Е. ....	106
Белокопытова И. И. ....	107
Билик В. Б. ....	108
Боброва Т. А., Брикунова О. Я. ....	109
Вылекжанина Е. Н. ....	110
Гартвих С. А. ....	111
Гильд Э.-Я. В. ....	112
Горяинова А. В. ....	113
Григорьева Ю. Д. ....	114

Диеспиров Г. П. ....	115
Елгина И. Д. ....	116
Заварзин Е. А., Четвертак Е. В., Коваленко С. Д. ....	117
Изьюров А. Е. ....	118
Каминская Я. П. ....	119
Клементьева Т. Н., Артемченко А. С., Косман Е. С. ....	120
Криклиявая Н. П. ....	121
Кузеина И. М. ....	122
Милутинович К. С., Белокопытова И. И. ....	123
Москалюк В. С. ....	124
Мутовина А. С. ....	125
Николайчук К. М., Бекенёва К. А., Федотова М. С. ....	126
Носальская З. К., Костыря М. Т. ....	127
Орешко А. С. ....	128
Пеунов Д. А. ....	129
Сивцева С. В. ....	130
Скотникова А. К. ....	131
Субботина А. О., Белоусова И. А., Павлушин С. В., Руднева Н. Г., Мартемьянов В. В. ....	132
Фрол Ю. Е. ....	133
Чальшева А. Е., Безручко М. В. ....	134
Шипилова Е. А. ....	135
Юсупова Д. И. ....	136

## ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

Алиев Т. И., Дегтярева А. О. ....	137
Базарова Э. Л. ....	138
Владимирова Е. В. ....	139
Гришко Е. О. ....	140
Еврейская А. А. ....	141
Жибурт А. К. ....	142
Зубкова А. Е. ....	143
Иванова Е. С. ....	144
Князева А. В. ....	145
Кокшарова Г. С. ....	146
Коложвари А. Э. ....	147
Коростелёва А. Л. ....	148
Кучарова Е. В., Антонова Е. Е. ....	149
Лыхина А. В. ....	150
Маковка Ю. В. ....	151
Мовчан Л. В. ....	152

Нурисламов А. Р., Таскина А. К. ....	153
Осипов Я. А. ....	154
Румянцев А. В. ....	155
Рюмин С. С., Безлепкина С. А. ....	156
Сайдакова С. С. ....	157
Сидоренко А. Д., Коростелёва А. Л. ....	158
Слободчикова А. Ю. ....	159
Соболева Е. С. ....	160
Сорогина Д. А., Дроздова Е. С., Пилицкая О. И. ....	161
Степанчук Я. К., Ян А. П. ....	162
Урин А. В. ....	163
Черенко В. А. ....	164
Шаяхметова Л. Ш. ....	165
Шершнёва Д. С. ....	166
Шишкина М. В. ....	167
Юшкевич Е. А. ....	168
Указатель авторов.....	169

Научное издание

МНСК-2021

БИОЛОГИЯ

Материалы

59-й Международной научной студенческой конференции

12–23 апреля 2021 г.

Корректор *Д. М. Валова*  
Верстка *А. С. Терешкиной*  
Обложка *Е. В. Неклюдовой*

Подписано в печать 20.04.2021 г.  
Формат 60 × 84/16. Уч.-изд. л. 11. Усл. печ. л. 10,23.  
Тираж 49 экз. Заказ № 47.

Издательско-полиграфический центр НГУ  
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2



Секция  
БИОЛОГИЯ

ISBN 978-5-4437-1167-6



9 785443 711676

**N\*** Новосибирский  
государственный  
университет  
**\*НАСТОЯЩАЯ НАУКА**

