

Материалы секции
БИОЛОГИЯ



22-27 апреля 2018
НОВОСИБИРСК

НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

МНСК-2018

БИОЛОГИЯ

Материалы
56-й Международной научной студенческой конференции

22–27 апреля 2018 г.

Новосибирск
2018

УДК 57
ББК Е.я431
Б 63

Научный руководитель секции — д-р биол. наук, проф. Н. Б. Рубцов
Председатель секции — д-р биол. наук, проф. П. М. Бородин
Ответственный секретарь секции — канд. хим. наук, доцент Л. М. Халимская

Экспертный совет секции:
канд. биол. наук В. С. Фишман
д-р биол. наук, чл.-корр. РАН А. В. Кочетов
член-корр. РАН, д-р биол. наук Н. Н. Дыгало
д-р биол. наук, проф. Н. М. Бажан
д-р биол. наук, доцент Т. С. Калинина
канд. биол. наук А. В. Бабина
канд. биол. наук П. Н. Меньшанов
канд. биол. наук С. А. Лашин
канд. биол. наук, доцент Д. А. Афонников
д-р биол. наук, доцент В. М. Ефимов
канд. биол. наук Е. В. Землянская
д-р биол. наук, доцент Д. П. Фурман
д-р биол. наук, доцент Д. О. Жарков
канд. биол. наук К. Е. Орищенко
канд. биол. наук С. Е. Седых
канд. биол. наук О. И. Сеницина
д-р биол. наук, проф. М. Г. Сергеев
канд. биол. наук, доцент Л. Б. Пшеницына

Б 63 Биология : Материалы 56-й Междунар. науч. студ. конф.
22–27 апреля 2018 г. / Новосиб. гос. ун-т. — Новосибирск : ИПЦ НГУ,
2018. — 202 с.

ISBN 978-5-4437-0750-1

УДК 57
ББК Е.я431

ISBN 978-5-4437-0750-1

© СО РАН, 2018
© Новосибирский государственный
университет, 2018

NOVOSIBIRSK STATE UNIVERSITY
SIBERIAN BRANCH OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

ISSC-2018

BIOLOGIE

Proceedings
of the 56th International Students Scientific Conference

April, 22–27, 2018

Novosibirsk
2018

УДК 57
ББК Е.я431
Б 63

Section scientific supervisor — Dr. Biol., Prof. N. B. Rubtsov
Section head — Dr. Biol., Prof. P. M. Borodin
Section responsible secretary — Cand. Chem., Assoc. Prof. L. M. Khalimskaya

Section scientific committee:
Cand. Biol. V. S. Fishman
Dr. Biol., Corr. Membr. RAS A. V. Kochetov
Dr. Biol., Corr. Membr. RAS N. N. Dygalo
Dr. Biol., Prof. N. M. Bazhan
Dr. Biol., Assoc. Prof. T. S. Kalinina
Cand. Biol. A. V. Babina
Cand. Biol. P. N. Men'shanov
Cand. Biol. S. A. Lashin
Cand. Biol., Assoc. Prof. D. A. Afonnikov
Dr. Biol., Assoc. Prof. V. M. Efimov
Cand. Biol. E. V. Zemlyanskaya
Dr. Biol., Assoc. Prof. D. P. Furman
Dr. Biol., Assoc. Prof. D. O. Zharkov
Cand. Biol. K. E. Orishchenko
Cand. Biol. S. E. Sedykh
Cand. Biol. O. I. Sinicina
Dr. Biol., Prof. M. G. Sergeev
Cand. Biol., Assoc. Prof. L. B. Pshenicina

Б 63 Biologie : Proceedings of the 56th International Students Scientific Conference. April, 22–27, 2018 / Novosibirsk State University. — Novosibirsk : IPC NSU, 2018. — 202 p.

ISBN 978-5-4437-0750-1

УДК 57
ББК Е.я431

ISBN 978-5-4437-0750-1

© SB RAS, 2018
© Novosibirsk State University, 2018

БИОИНФОРМАТИКА

УДК 575.852

Анализ повторяющихся последовательностей в геномах грибов *Porodaedalea niemelaei*, *P. chrysoloma* и *Armillaria borealis*

А. И. Аксенова

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Анализ повторяющихся последовательностей в геномах грибов рода *Porodaedalea* и *Armillaria* был начат одновременно с поиском новых важных генов и метаболических путей, участвующих в разложении древесины и лигнина. Эти грибы играют важную биологическую и экологическую роль в поддержании минерального баланса в бореальных лесных экосистемах, а также участвуют в глобальном углеродном цикле. Кроме того, в последние годы грибы рода *Armillaria*, которые являются обычно типичными сапрофитами, растущими на мертвой древесине, все чаще встречаются на живых деревьях, что оказывает пагубное воздействие на деревья. Подобное негативное воздействие этих грибов на растения может увеличиться из-за глобального изменения климата. Грибы рода *Porodaedalea* эффективно разлагают древесину, лигнин и целлюлозу на более простые соединения, которые могут быть использованы в производстве этанола на основе целлюлозы.

Геном *Porodaedalea niemelaei* секвенировали и аннотировали с использованием технологии PacBio в лаборатории лесной геномики СФУ совместно с JGI. Размер полногеномной сборки составил 53 млн нуклеотидных оснований (н. о.). Геномная сборка *P. chrysoloma* была получена из базы данных JGI. Ее размер составил 44 млн н. о. Геном *Armillaria borealis* секвенировали и аннотировали в лаборатории лесной геномики СФУ на платформе IlluminaHiSeq 2000. Размер полногеномной сборки составил 66 млн н. о.

Анализ повторяющихся последовательностей был проведен при помощи программы RepeatModeler, предназначенной для поиска повторов *de novo* совместно с программой TEclass.

В геноме *P. niemelaei* был обнаружен 161 повтор, в геноме *P. chrysoloma* — 122 повтора, а у *A. borealis* — 886. Среди всех повторов у данных грибов наиболее представлены повторы семейств *Gypsy* и *Copia*.

Сравнительный анализ повторяющихся последовательностей в геномах базидиомицетов помогает более точно определить таксономическое положение и эволюционные взаимоотношения этих видов.

Работа выполнена в рамках проекта «Геномные исследования основных бореальных лесообразующих хвойных видов и их наиболее опасных патогенов в Российской Федерации», финансируемого Правительством РФ (договор № 14.Y26.31.0004).

Научные руководители — д-р биол. наук Ю. А. Путинцева, проф. И. Н. Павлов, канд. биол. наук, проф. К. В. Крутовский

Муковисцидоз: динамическая модель созревания CFTR-рецептора

Д. А. Астапенко

Новосибирский государственный университет

Муковисцидоз, или кистозный фиброз — достаточно распространенное заболевание аутосомно-рецессивного типа, обусловленное мутацией в гене CFTR, локализованном в середине длинного плеча седьмой хромосомы. CFTR представляет собой трансмембранный белок, выполняющий функции ионного канала для Cl^- , HCO_3^- . Мутация F506del приводит к неправильной сборке и в последствии к некорректной работе CFTR-рецептора.

На сегодняшний день предложено лишь симптоматическое лечение муковисцидоза, что подтолкнуло нас к поиску альтернативного пути. Мы решили проанализировать механизмы сворачивания и транспорта CFTR, а также механизмы контроля качества данного белка, чтобы создать модель здоровой и больной клетки, а затем предложить пути лечения кистозного фиброза посредством модулирования взаимодействий F505-del-CFTR с компонентами, ответственными за его сборку. Наша работа по моделированию опирается на экспериментальные данные, полученные из Biosystems and Integrative Sciences Institute (Лиссабон).

Подробная схема, описывающая механизм созревания и сборки CFTR-рецептора, была реализована в CellDesigner 4.4. Соответствующая динамическая модель была построена в COPASI.

Динамическая модель созревания CFTR рецептора была согласована с экспериментальными данными для здоровой / больной клетки, полученными коллегами из Biosystems and Integrative Sciences Institute (BioISI). С помощью модели мы нашли сетевые мишени, способствующие повышению эффективности работы больных клеток через модуляцию сборки и созревания рецептора.

Научные руководители — канд. биол. наук А. Н. Колодкин

Оценка последствий хромосомных перестроек с точки зрения трехмерной организации генома

П. С. Белокопытова, Д. С. Фишман

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Только 1,5 % от всей длины ДНК занимают белок-кодирующие гены, оставшаяся часть молекулы представлена некодирующими элементами, в число которых входят такие регуляторные элементы, как энхансеры и промоторы. Активность энхансеров является клеточно-специфичной и способна изменять уровень экспрессии генов в сотни и тысячи раз.

Специфичность действия энхансеров определяется физическим взаимодействием с промоторной областью гена, поэтому для реализации функции необходимо, чтобы энхансеры и регулируемые ими промоторы были сближены в пространстве ядра. Однако энхансеры часто располагаются на огромном расстоянии (до 1 МБ) от промоторов, если рассматривать их в линейных координатах генома. Предполагается, что компактно уложенный геном имеет петлевую организацию, таким образом отдаленные регионы генома оказываются в пространстве рядом друг с другом. В ряде работ показано, что наблюдаемые при хромосомных перестройках изменения пространственных контактов между регуляторными элементами могут приводить к развитию заболеваний, даже если сами регуляторные элементы и кодирующие участки генома сохраняются неизменными.

Целью нашей работы является разработка и экспериментальная проверка метода анализа последствий хромосомных перестроек, учитывающая изменения трехмерных контактов хроматина.

Нашей задачей является поиск таких участков генома, при мутации которых ожидается изменение взаимодействия энхансеров и промоторов, сопровождающихся изменением экспрессии генов. Для решения этой задачи мы модифицировали предложенный в недавнем исследовании [1] алгоритм машинного обучения, позволяющий определять взаимодействующие промотор-энхансерные пары на основе доступных ChIP-seq данных для мышинного генома. В результате мы научились с высокой точностью предсказывать пространственные взаимодействия участков генома и выявили наиболее важные белки и эпигенетические модификации, влияющие на производительность алгоритма.

1. Whalen S. et al. Enhancer-promoter interactions are encoded by complex genomic signatures on looping chromatin // Nature genetics. 2016. V. 48. P. 488–496.

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

**Предсказание перспективных генов-мишеней для селекции
на устойчивость к окислительному стрессу
С3 и С4 культурных злаков**

А. В. Бобровских

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Активные формы кислорода (АФК) являются одним из ключевых факторов, который повреждает живые системы. Во время стресса продукция АФК многократно увеличивается, что может вызвать гибель организма. Улучшение характеристик ферментативной системы антиоксидантной защиты у культурных растений позволит повысить их устойчивость к абиотическим стрессам (засоленность, засуха, холод).

В настоящей работе впервые проведен системный анализ особенностей молекулярной эволюции и экспрессии генов для четырех функциональных групп ферментов-компонентов системы антиоксидантной защиты (аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза и каталаза). Было найдено и проанализировано 25 ортологических групп генов у злаков. Были выделены 6 ортологических групп с наиболее высоким уровнем экспрессии и наибольшим давлением стабилизирующего отбора для дальнейшей верификации и использования в селекции.

Полученные данные согласуются с известными данными о хромосомной локализации генов, ассоциированных с активностью антиоксидантной системы. Показано, что интеграция эволюционных характеристик и экспрессионных данных является продуктивным и наглядным подходом к предсказанию перспективных генов для селекции.

Работа была поддержана грантом РФФИ 17-74-10198. При анализе данных использованы вычислительные ресурсы ЦКП Биоинформатика.

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

**Филогенетический анализ белков,
участвующих в образовании биопленок**

А. М. Борисов, Д. С. Григорьева, Ю. С. Шварцберг
Иркутский государственный университет

Микробные биопленки представляют собой основную форму существования бактерий как во внешней среде, так и в организмах животных и растений. Они играют значительную роль в разных аспектах человеческой деятельности. Бактериальные пленки защищают колонии бактерий от внешнего воздействия. Мы предполагаем, что, несмотря на необычайное разнообразие видов бактерий, их механизмы биопленкообразования мало отличаются [1]. В этом механизме задействовано множество белков. Для изучения эволюции механизма биопленкообразования *E. coli* был проведен филогенетический анализ последовательностей белков, кодируемых генами *bcsA*, *bolA*, *cpxR*, *dkgA*, *dxsA*, *kbp* = *ygaU*, *pdeD* = *yoaD*, *rpoS*, *spoT*, *wza*, *zwf* (взяты наиболее распространенные).

Мы провели филогенетический анализ бактериальных генов, участвующих в регуляции биопленкообразования. Для этого с помощью онлайн-сервиса EcoliNet была построена генная сеть и дополнена новыми генами для связи между известными взаимодействиями белков. На основе этой генной сети были выбраны гены, кодирующие ключевые белки, которые формируют биопленки. Для выбора белков, гомологичных исследуемым, использовались программы BioEdit. Затем было проведено выравнивание (алгоритмом BLASTn) и сделан филогенетический анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей (CLUSTALW).

Для выбора видов бактерий, расположенных на разном эволюционном расстоянии от модельного вида *E. coli*, использован онлайн-сервис TimeTree.

В результате проделанной работы было установлено, что гены *rpoS*, *spoT*, *bolA*, участвующие в регуляции экспрессии, эволюционно консервативны и распространены практически у всех микроорганизмов, тогда как гены, кодирующие регулируемые белки (в данном случае компоненты матрикса — целлюлозу и колановую кислоту), более вариабельны.

1. Маркова Ю. А. и др. Регуляция формирования биопленок *Escherichia coli* (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2018. Т. 54. №. 1. С. 3–15.

Научные руководители — д-р биол. наук Ю. А. Маркова,
канд. техн. наук, доцент И. С. Петрушин

Исследование особенностей структуры тотального транскриптома лиственницы сибирской на основе статистических свойств контигов

Т. А. Гусева

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Тотальный транскриптом является важным объектом в различных исследованиях в области биоинформатики. Основная цель данной работы заключалась в выявлении закономерностей дифференциальной экспрессии генов. На основе анализа распределения длин контигов тотального транскриптома лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), были отобраны последовательности, длина которых превышала 4000 н.о. Затем для каждой последовательности строился частотный словарь триплетов с единичным шагом. Полученные словари разбивались на кластеры от 2 до 5 методом динамических ядер, результат кластеризации проверялся на устойчивость. Основная гипотеза состоит в том, что полученные кластеры являются тканеспецифичными.

Деление на 2, 4 и 5 кластеров оказалось весьма устойчивым. Для каждого из выделенных кластеров выявлялось динамическое ядро — среднее арифметическое всех точек в кластере. Рассчитывались величины невязки Чаргаффа как внутри каждого из ядер, так и между ядрами. Невязка для триплетов по правилу Чаргаффа определяется различиями частот внутри пар, составляющих комплементарный палиндром. Комплементарный палиндром — последовательность, равная по длине данной, но прочитанная в обратном порядке с учетом замены комплементарных оснований.

Наряду с тотальным транскриптом были собраны четыре отдельных транскриптома тканей: хвои, побега, проростка и камбия, и для каждого из них была проведена кластеризация. Для окончательной проверки гипотезы о тканеспецифичности каждого из кластеров тотального транскриптома будет проведено обратное картирование ридов, полученных в ходе секвенирования. Косвенно гипотеза проверялась построением суррогатного тотального транскриптома, т. е. транскриптома, полученного путем объединения множества контигов каждой ткани в один общий файл. Также были посчитаны невязки как внутри классов, так и между ними для каждой ткани и установлено, что контиги делятся по стрендовой принадлежности (в случае деления на 2 класса) и при делении на 3 класса, предположительно, новый класс объединяет контиги, соответствующие пересекающимся генам.

Кластеризация суррогатного транскриптома на 4 и 5 кластеров не выявила очевидного распределение контигов специфичных тканей по классам.

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

Исследование влияния транскрипционных факторов на эволюцию геномов растений

А. И. Дергилев

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,
Университет Гренобль-Альпы, Франция

Эволюция растений привела к огромному усложнению (комплексификации) генома растений, в ходе которого изменялись как специфические факторы транскрипции (ТФ) в геномах растений, так и сайты связывания этих транскрипционных факторов (ССТФ). На сегодняшний день науке известно около 5700 видов зеленых водорослей, объединенных в 360 родов. Данная проблема приводит к вопросам: как присутствие ТФ изменяет геномную последовательность? что эволюционировало в первую очередь? меняется ли сначала фактор транскрипции и порождает сайты связывания, или в одном из древних геномов уже имеются необходимые сайты связывания?

Задача данной работы — проанализировать, как последовательность геномов изменилась вместе со сложностью популяции ТФ в геномах растений. Для этого необходимо проанализировать наличие, плотность и организацию ССТФ в различных геномах растений и сравнить их свойства в зависимости от принадлежности к классу. В частности, внимание сосредоточено на факторах из классов LFY, MADS и ARF, отвечающих за рост, строение цветков и другие важные функции. При этом геном не растений будет использован в качестве основы для сравнения.

Данная задача требует полногеномного анализа семейств некоторых растений, а также работы с филогенетическими деревьями этих семейств. Для решения данной задачи используется набор инструментов «Morpheus», разработанный сотрудниками французской организации CEA (Eugenio Gomez Minguet, Stephane Segard, Celine Charavay, Francois Parcy), предназначенный специально для анализа сайтов связывания транскрипционных на последовательностях ДНК. В качестве входных данных программа использует набор последовательностей в формате FASTA и PWM (Позиционная весовая матрица). В «Morpheus» задействован язык программирования Python для написания нужных скриптов и библиотека Matplotlib — для получения графической интерпретации результатов (гистограмм), представляющих плотность и расположение лучших ССТФ в окрестности генома, а также вероятность обнаружения других ССТФ, их относительное положение.

Научный руководитель — проф. РАН, д-р биол. наук Ю. Л. Орлов

Ранний и поздний транскрипционный ответ на низкие концентрации салициловой кислоты в корне *Arabidopsis thaliana* L.

Е. Е. Елгаева

Новосибирский государственный университет

Салициловая кислота (СК) — гормон стресса растений. На протяжении долгого времени роль СК как модулятора процессов роста и развития оставалась мало изученной. В научных работах, как правило, рассматривалось влияние высоких концентраций СК (> 100 мкмоль/л) и преимущественно на наземную часть растений. Чаще всего исследовались эффекты от длительной обработки СК (~ 24 часа), что лишало возможности выявить первичные молекулярно-генетические мишени СК (ранний транскрипционный ответ). К настоящему моменту физиологические и молекулярно-генетические эффекты от воздействия низких концентраций СК, особенно в корнях растений, мало изучены. Коллеги из ИЦИГ СО РАН недавно показали, что воздействие низких концентраций экзогенной СК (< 50 мкмоль/л) на корни *A. thaliana* приводит к активации придаточных корней, рост главного и боковых корней ингибируется. Целью данной работы было выявить гены-мишени в пути передачи сигнала низких концентраций СК в раннем и позднем ответе в корне *A. thaliana*.

Использовались данные RNA-Seq, полученные на корнях трехдневных проростков *A. thaliana*, после 0-, 1- и 6-ти часовой обработки СК в концентрации 20 мкмоль/л, секвенирование проводилось на Illumina-HiSeq2000/2500 (BGI Tech, Hong Kong). Анализ RNA-Seq данных включал контроль качества (FASTQC), предобработку ридов (Trimmomatic), их картирование (STAR) и анализ дифференциальной экспрессии (DESeq2). Функциональная аннотация дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) проводилась в agriGO.

Мы выявили 1538 ДЭГ в первичном ответе и 3114 в позднем ответе. Функциональный анализ ДЭГ выявил обогащение терминами «ответ на СК», «защита», «иммунный ответ» уже при часовой обработке СК. С одной стороны, это свидетельствует о высоком качестве проведенного RNA-Seq эксперимента, с другой стороны, показывает, что в раннем ответе на низкие концентрации СК могут работать те же механизмы, что и в позднем ответе на высокие концентрации. При шестичасовой обработке был обнаружен термин «метаболизм СК», что может означать активацию катаболизма СК в позднем ответе.

Научные руководители — канд. биол. наук В. В. Миронова,
канд. биол. наук Е. В. Землянская, канд. биол. наук С. А. Лашин

Построение и анализ генной сети нарушений слуха и глухоты человека

В. И. Замятин

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Нарушение слуха — это полное или частичное снижение способности обнаруживать и понимать звуки, обнаруживать некоторые (или все) частоты или неспособность различать звуки с низкой амплитудой. Для наследственных отклонений выделяют два типа: несиндромальные (изолированные) и синдромальные (сочетание с другими признаками). Проведенные к моменту написания работы исследования позволяют выделить гены, ассоциированные с нарушением слуха и структурно-функциональную организацию их продуктов — транскрипционных факторов (ТФ), внутриклеточных (атипичные миозины и структурные белки), трансмембранных (каналопатии, белки клеточной адгезии), внеклеточных белков. Вследствие появления все большего количества геномных, молекулярных и гистологических данных происходит детализация отдельных молекулярно-генетических систем человеческого организма и фенотипических отклонений, вызываемых нарушениями в одном или нескольких элементах этих систем. Данная работа является попыткой рассмотреть совокупность всех вышеуказанных типов информации о нарушении слуха с последующим построением генной сети для реализации возможности комплексного анализа вариаций данного заболевания.

На основе данных ресурса Hereditary Hearing Loss и статьи [1] сформированы две выборки генов, ассоциированных с нарушениями слуха. Среди них были выделены ТФ. Был произведен поиск паралогов для обеих выборок с использованием KEGG API. С помощью инструментов базы данных CIS-BP произведен поиск сайтов связывания ТФ, что расширило набор ТФ; сформированы паттерны корегуляции. Генная сеть была построена в программе CytoScape, плагин GeneMANIA, на основе данных о корегуляции, коэкспрессии, колокализации, физических и генетических взаимодействиях. Формирование информации об ортологах, полученной из базы данных KEGG, и ее последующая обработка плагином Orthoscape позволили провести эволюционный анализ компонентов генной сети.

Работа частично поддержана грантом РФФИ 17-29-06016.

1. *Stamatiou G., Stankovic K. A Comprehensive Network and Pathway Analysis of Human Deafness Genes // Otolology & Neurotology. 2013. № 34. P. 961–970.*

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

**Сборка митохондриального генома
сосны сибирской кедровой (*Pinus sibirica* Du Tour)**

А. Д. Кириченко, Е. И. Бондар, В. В. Шаров
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Большинство растений имеет два типа органелл — митохондрии и хлоропласты, обладающие собственным геномом. Как правило, митохондриальный геном наследуется по материнской линии и имеет гораздо более сложную структуру, чем хлоропластный геном, особенно у эволюционно древних хвойных растений. На данный момент лишь для четырех видов хвойных были опубликованы митохондриальные геномы.

Для облегчения секвенирования и сборки сосны сибирской кедровой (кедра) (*Pinus sibirica* Du Tour) было проведено обогащение образцов ДНК митохондриальной фракцией в лаборатории генетической инженерии растений СИФиБР СО РАН под руководством проф., д-ра биол. наук Ю. М. Константинова. В лаборатории лесной геномики СФУ было проведено секвенирование полученных образцов на платформе Illumina HiSeq 2000. Ассемблирование нуклеотидных последовательностей осуществлялось при помощи коммерческого пакета компьютерных программ CLC Assembly Cell с последующим использованием программы Sealer для скаффолдинга и финиширования сборки. В результате общая сборка митохондриального генома кедра составила 879595 скаффолдов суммарной длиной 283,4 млн п. н.

Для отбора именно митохондриальных скаффолдов проводилось выравнивание геномной сборки при помощи BLAST на базу из 3489 (143,5 млн п. н.) последовательностей митохондриальных генов и геномов семенных растений. В результате было отобрано 97 скаффолдов суммарной длиной 3,1 млн п. н.

Первичная аннотация была проведена при помощи пакета компьютерных программ Mitofy. Было выявлено 11 стандартных митохондриальных генов, отвечающих за окислительное фосфорилирование в 11 скаффолдах общей длиной 2,9 млн п. н. Полученная нами сборка кедра была в пределах длины сборок митохондриальных геномов хвойных, которые варьируют в широких пределах: от 1,2 млн п. н. у *Pinus taeda* и 3,9 млн п. н. у *Pinus lambertiana* — до 5,9 млн п. н. у *Picea glauca*. Считается, что разница в размерах митохондриального генома обусловлена в основном различными размерами некодирующих участков.

Работа выполнена в рамках проекта финансируемого Правительством РФ (договор № 14.Y26.31.0004) и проекта РФФИ (договор № 16-04-01400).

Научные руководители — Ю. А. Путинцева,
канд. биол. наук, проф. К. В. Крутовский

**Разработка метода проверки
одной гипотезы эволюции сплайсосомных интронов**

Н. С. Кобало

Новосибирский государственный университет

Существует предположение [1], что сплайсосомные интроны эволюционировали от интронов группы II, способных к самосплайсингу. Интроны группы II обладают консервативной вторичной структурой, которая обуславливает их способность к самосплайсингу. Если гипотеза о происхождении сплайсосомных интронов от интронов группы II верна, то в сплайсосомных интронах могли остаться следы вторичной структуры последних. Для проверки данной гипотезы необходимо уметь находить следы интронов группы II в геномах. Кроме того, изучение структуры интронов группы II может быть полезным для разработки методов биоинженерии, а также для понимания роли интронов в биологической эволюции.

В данной работе разработан алгоритм для построения моделей вторичной структуры интронов группы II по известным примерам последних, построены модели вторичной структуры для митохондриальных и хлоропластных интронов нескольких растений. Эти модели были применены для поиска интронов группы II в геноме цветка *Arabidopsis Thaliana* и человека.

1. *Koonin E. V.* The origin of introns and their role in eukaryogenesis: a compromise solution to the introns-early versus introns-late debate // *Biology Direct*. 2006. doi:10.1186/1745-6150-1-22.

Научные руководители — канд. физ.-мат. наук И. И. Титов, А. И. Куликов

Дифференциальная экспрессия и альтернативный сплайсинг глиом по данным RNA-Seq на культурах клеток

С. С. Ковалев

Институт цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирский государственный медицинский университет

Среди всех первичных опухолей у взрослых глиобластома является наиболее распространенной (60 % от всех первичных опухолей) и злокачественной (выживаемость около года после постановки диагноза). Для получения более полного представления о механизме происхождения глиальных опухолей требуется проведение новых исследований, опирающихся на современные клеточные технологии, высокопроизводительное геномное секвенирование, методы современной биоинформатики, а также интеграция имеющейся информации из международных баз данных и геномных проектов.

В ИЦиГ СО РАН проведен эксперимент по анализу транскриптом (RNA-Seq) в первичных культурах клеток глиом и нормального мозга, в ходе которого был получен список дифференциально экспрессирующихся генов. Всего найдено более восьми тысяч случаев дифференциальной экспрессии. Выявлены несколько тысяч случаев альтернативного сплайсинга и произведена работа над литературой для анализа участия изоформ этих генов в развитии глиом, в частности, для генов *APP*, *CAS4*, *TPP53*, генов комплекса ядерной поры (nuclear pore complex, NPC). Для дальнейшего анализа генов, связанных с развитием глиом использовалась база данных OMIM (<http://omim.org>).

В настоящее время доступно большое количество данных экспериментов секвенирования на культурах клеток опухолей, в том числе по различным типам глиом, представленных в ресурсах TCGA (The Cancer Genome Atlas), GEO NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/?term=glioma>). По этим данным опубликован большой набор статей, содержащих информацию о генах, специфично экспрессирующихся в раковых клетках, в том числе с учетом сплайсинга, о профилях метилирования и т. д. Такая информация нуждается в аккумулировании и представлении в компьютерной базе данных вместе с полученными собственными транскриптомными данными по дифференциальной экспрессии и сплайсингу. Полученные данные могут быть использованы в дальнейшем в разработке диагностики глиом.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Ю. Л. РАН Орлов

**Быстрая эволюция митохондриальных геномов
трех близкородственных видов грибов рода *Armillaria*
в результате инвазии мобильных генетических элементов**

А. И. Колесникова

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Сравнительный анализ митохондриальных геномов близкородственных организмов позволяет получить новые данные об их филогенетических и эволюционных взаимоотношениях. В этом отношении особенно интересны растения и грибы, размер митохондриальных геномов которых значительно превышает таковой у животных.

Для данного исследования использовались ранее собранные и аннотированные нами митохондриальные геномы *Armillaria borealis* и *A. sinapina*, а также митохондриальный геном североамериканского вида *A. solidipes*, сборка которого опубликована в базе данных JGI.

Поиск геномных перестроек осуществляли с помощью компьютерной программы MAUVE. Генные дубликации были найдены с помощью программы BLAST путем выравнивания нуклеотидной последовательности митохондриального генома против самой себя. Совпадающие участки с ожидаемым значением вероятности случайного совпадения (e-value) менее 0,001 рассматривались как дубликации. Нуклеотидные последовательности интронов трех видов сравнивались между собой и с базой данных GenBank также с использованием BLAST.

Несмотря на консервативный набор генов, в трех геномах были выявлены существенные перестройки между генами *rps3* и *atp9*. Во всех трех геномах были найдены частичные генные дубликации гена *atp9*. В *A. solidipes* и *A. sinapina* дубликации находятся внутри гена *rnl*, когда в *A. borealis* дубликация располагается после открытой рамки считывания мобильного элемента LAGLIDADG. Полученные результаты указывают на активную динамику приобретения интронов в течение эволюции. Некоторые интроны имеют гомологию с весьма отдаленными видами грибов. Кроме того, в геноме *A. sinapina* были обнаружены плазмиды, отсутствующие у *A. borealis* и *A. solidipes*, что указывает на разные источники их происхождения. Предположительно, горизонтальный перенос играл важную роль в структуре и эволюции митохондриальных геномов *A. borealis*, *A. solidipes* и *A. sinapina*.

Работа выполнена в рамках проекта «Геномные исследования основных бореальных лесобразующих хвойных видов и их наиболее опасных патогенов в Российской Федерации», финансируемого Правительством РФ (договор № 14.Y26.31.0004).

Научные руководители — Ю. А. Путинцева,
канд. биол. наук, проф. К. В. Крутовский

Выявление связи тринуклеотидного состава генов и таксономии их носителей на примере генов митохондрий некоторых грибов

А. И. Колесникова, В. Д. Федотовская, Т. О. Шпагина
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Выявление связей и закономерностей, связывающее структуру нуклеотидных последовательностей и таксономии их носителей, является одной из фундаментальных задач биоинформатики.

Изучалась указанная связь на примере 14 протеин-кодирующих генов митохондрий грибов, функционально отвечающих за окислительное фосфорилирование, а именно: *nad1*, *nad2*, *nad3*, *nad4*, *nad4L*, *nad5*, *nad6*, *cob*, *cox1*, *cox2*, *cox3*, *atp6*, *atp8*, *atp9*, пяти таксономических единиц — отделов: *Basidiomycetes*, *Ascomycetes*, *Blastocladiomycota*, *Chytridiomycota* и *Zygomycota*. Из полных митохондриальных геномов, депонированных в NCBI GenBank, извлекались гены в двух версиях: зрелые мРНК и исходные последовательности с интронами. Для каждой группы генов строились частотные словари триплетов в двух вариантах: с тройным и единичным шагом. Полученные словари в программе ViDaExpert разбивались на кластеры от двух до пяти методом динамических ядер, и результат кластеризации проверялся на устойчивость. Также проводилась визуализация кластеризации. Далее рассчитывались величины невязки Чаргаффа как внутри каждого из ядер, так и между ядрами. Невязка для триплетов по правилу Чаргаффа определяется различиями частот внутри пар, составляющих комбинаторный палиндром. Для расчетов использовался редактор Excel.

Исследовались два ключевых вопроса: делятся ли точки в соответствии с таксономическими группами и меняется ли принадлежность точек к тому или иному кластеру при последовательном увеличении общего числа кластеров. При делении на два кластера было обнаружено, что точки устойчиво делятся. Для каждого из выделенных кластеров выявлялось динамическое ядро — среднее арифметическое для всех точек в кластере.

Аналогично исследуются случаи деления на три, четыре и пять классов. Связь с конкретными генами и конкретными видами изучается.

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

Применение биоинформационных подходов к анализу ферментативных систем гематофагов

Д. К. Константинов

Новосибирский государственный университет

Гельминты-гематофаги широко распространены и пагубны для позвоночных (шистосомоз, описторхоз и т. д.). Распространенными приспособлениями к паразитизму является редукция морфологии и изменение биохимии. Для нормальной жизнедеятельности паразита-гематофага крайне важны система метаболизма гема и антиоксидантная система. Это связано с тем, что при данном типе питания в организм паразита поступает большое количество компонентов крови, и ему необходимо утилизировать токсичные избытки железа и производные гема. Также следует отметить, что внутренняя среда хозяина является агрессивной для паразита. Это связано как с деятельностью иммунных клеток, так и с химическими условиями (рН и т. д.). Как следствие паразиту необходимо иметь хорошую систему антиоксидантной защиты.

Основываясь на данных о модельных организмах, для каждой эволюционной линии был сформирован набор последовательностей-компонентов изучаемых систем. Затем был проведен крупномасштабный поиск гомологов. Для каждого набора гомологов был проведен сравнительный анализ доменной структур. В результате филогенетического анализа были определены ортологи и паралоги.

У плоских червей выявлен полный набор генов биосинтеза гема. В то же время было выявлено отличие доменного состава у белков, катализирующих реакцию образования 5-аминолевулиновой кислоты из глицина и сукцинил-КоА. Выявлены различия в наборе генов, ответственных за синтез компонентов антиоксидантных систем, а также генов ферментов, ответственных за деградацию гема, что свидетельствует о значительных различиях в организации этих систем между свободно живущими и паразитарными организмами.

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

Метагеномный анализ микробных сообществ геотермальных источников острова Кунашир

А. В. Коржук

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Изучение микробных сообществ геотермальных источников сыграло крайне важную роль в развитии представлений о филогении прокариот и способствовало развитию биотехнологии и молекулярной биологии. Так как многие виды прокариот не поддаются культивированию, большая часть информация об их свойствах и разнообразии получается при использовании метагеномных подходов, появление и развитие которых идет в ногу с развитием методов молекулярной биологии, в частности, методов секвенирования второго поколения.

В докладе будут представлены данные филогенетического анализа микробных сообществ озера Фауста и Третьяковского источника острова Кунашир. Кунашир — один из южных островов Курило-Камчатского вулканического пояса, расположенного на территории России, что делает его источники особенно интересными в виду поступления в них большого количества органических остатков из окружающей среды, благоприятствующих развитию микрофлоры. Из-за закрытости территории геотермальные источники южных Курил до недавнего времени практически не изучались микробиологически и совсем не изучались при помощи метагеномных подходов, в связи с чем данные, полученные нами, представляют особый интерес для фундаментальной науки.

Летом 2017 года сотрудниками лаборатории молекулярных биотехнологий ИЦиГ СО РАН были выполнены полевые работы по сбору материала для метагеномных исследований. Нами выполнено выделение ДНК из образцов. Из выделенных ДНК Центром Геномных Исследований ИЦиГ СО РАН были подготовлены библиотеки для секвенирования. Секвенирование проведено Центром Генетики и Репродуктивной Медицины «ГЕНЕТИКО» на платформе Illumina NovaSeq 6000, г. Москва. Полученный в ходе секвенирования объем данных позволяет получить большую часть геномных последовательностей для прокариот, встречающихся с частотой более 0,1 % от общего числа микроорганизмов. Ранее подобных работ в России не проводилось.

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

**Разработка программного комплекса
для высокопроизводительного метагеномного анализа**

А. В. Кузьмичев

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Последние годы ознаменовались значительным прорывом в области экспериментальной биологии, в частности, в области получения метагеномов микробных сообществ. Это привело к взрывообразному накоплению экспериментальных данных, требующих компьютерной обработки и последующего осмысления.

Имеющиеся в настоящее время сервисы (например, MG-RAST, IMG) и программные библиотеки (QIIME, velvet и др.), обладая в целом необходимой функциональностью, также имеют ряд существенных ограничений.

В рамках данной работы проводится разработка программного комплекса для автоматизированного анализа метагеномных данных, а также для построения на их основе структурных и динамических моделей микробных сообществ, что является крайне актуальной задачей современной биоинформатики.

Был развернут программный комплекс на основе MG-RAST [1] с возможностью балансировки нагрузки на вычислительных ресурсах. Кроме того, добавлена функциональная возможность сохранения сценариев обработки для их последующего переиспользования. Реализованное средство позволяет сотрудникам ИЦиГ СО РАН производить анализ метагеномных данных вне зависимости от доступности внешних сервисов, сохраняя конфиденциальность данных.

1. Meyer F. *et al.* The metagenomics RAST server—a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes // BMC bioinformatics. 2008. V. 9. № 1. P. 386.

Научные руководители — канд. биол. наук С. А. Лашин, А. И. Клименко

**Изучение метаболизма *Geobacillus icigianus*
на основе метода потокового моделирования**

М. А. Куляшов

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

В работе представлена разработка полногеномной математической модели, описывающей динамику изменений внутри- и внеклеточных метаболитов бактериальной клетки в ответ на генетическую модификацию и / или изменение условия внешней среды, что является существенным этапом в процессе инжиниринга метаболических путей для оптимизации биосинтеза целевых продуктов в бактериальных системах. Особый интерес этот теоретический подход представляет для так называемых немодельных еще не исследованных организмов, каким и является *Geobacillus icigianus* — недавно открытый в ИЦиГ СО РАН вид термофильных бактерий.

Бактерии *G. icigianus* культивировались в условиях биореактора с постоянной подачей воздуха (литр воздуха / литр среды в минуту), а также в микробиологических качалках. Условия культивирования: температура 62 °C, pH 8,0. Для культивирования на минимальной среде необходимо добавление нитрилтриуксусной кислоты, солей железа, магния, кальция, а также витаминов и микроэлементов. Измерения роста культуры производили с помощью спектрофотометра ПЭ 5400. Для построения математической модели и ее последующей модификации были использованы аннотированный геном из базы NCBI (ASM75000v1) и программы ModelSEED (<http://modelseed.org/>), RAST (<http://rast.nmpdr.org/>), MOST (<http://most.ccib.rutgers.edu/index.html>).

На основе аннотированного генома была построена полногеномная модель *G. icigianus*, которая содержит 1456 метаболитов и 1428 реакций, описывающих основные пути ассимиляции субстратов (гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, рибулозомонофосфатный путь), биосинтез ДНК, РНК, аминокислот и жирных кислот и др. В результате проведенных экспериментов с *G. icigianus* были получены параметры роста культуры на разных субстратах, было показано, что наиболее эффективными для культивирования являются такие субстраты, как глюкоза и глицерин. Проведенные эксперименты позволили уточнить уравнение биомассы для оптимизации роста *in silico* и, соответственно, оценить основные метаболические пути в клетке *G. icigianus*, направленные на максимизацию выработки биомассы.

Научные руководители — канд. биол. наук И. Р. Акбердин,
канд. биол. наук А. С. Розанов

Разработка веб-сервиса для многомерной функциональной аннотации *Arabidopsis thaliana*

А. М. Мухин

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск,
Новосибирский государственный университет

Благодаря развитию технологий полногеномного секвенирования, в исследовании активности генов было получено большое количество табличных данных о дифференциально экспрессирующихся генах, дальнейший анализ которых является актуальной задачей. Дифференциально экспрессирующимися генами (ДЭГ) являются гены статистически значимо изменившие свою экспрессию в ответ на стимул. Одним из способов анализа ДЭГ является использование генной онтологии (ГО) — унифицированной семантической системы для аннотации генов. В частности, типичным методом исследования является функциональная аннотация списка ДЭГ с помощью ГО терминов (идентификаторы молекулярной и биологической функции, а также физическое проявление функции в клетке). Такой метод используется в популярных сервисах DAVID и agriGO. Однако информация о степени изменении экспрессии генов в этих сервисах не используется. Эта идея была реализована в пакете FSGOR исследователями из НГУ. Данный пакет позволяет выявлять ГО термины, статистически значимо ассоциированные с определенной степенью изменения экспрессии. Целью данной работы является разработка веб-сервиса для удобного использования пакета FSGOR в сети Интернет.

Для реализации данной задачи были выбраны следующие языки программирования и технологии:

- R — язык программирования для статистического пакета FSGOR
 - RServe — библиотека, предоставляющая доступ к R, используя бинарный протокол;
- Java — язык программирования для написания сервера, которое будет передавать R входные данные и параметры
 - Spring — фреймворк для разработки веб-сервисов;
- JavaScript — язык программирования для построения веб-клиента, работает в браузере
 - Vue.JS — библиотека для построения интерфейса.

На данный момент веб-сервис развернут в сети ИЦиГ СО РАН и проект находится на стадии тестирования пользователями. В дальнейшем будут реализованы методики на других количественных метриках, улучшение архитектуры веб-приложения и добавление базы данных для хранения данных. Работа поддержана грантом РФФИ № 18-04-01130 а.

Научные руководители — канд. биол. наук С. А. Лашин,
канд. биол. наук В. В. Миронова

Политомический компьютерный ключ для определения растений семейства Ranunculaceae Juss

И. В. Новолодский

Бурятский государственный университет.

Ranunculaceae Juss. является одним из центральных и узловых семейств во многих филогенетических системах цветковых растений. Сложность определения растений данного семейства через дихотомический ключ, подтолкнула нас созданию авторских политомических ключей, на основе матриц определения. Матрицы послужили основой для разработки и создания политомического ключа для определения и систематизации растений

семейства Лютиковые.

Ключ предназначен для определения 51 вида принадлежащим к пяти родам семейства, все растения снабжены ботаническими описаниями и иллюстрациями, база данных растений постоянно пополняется и обновляется. Функционал программы так же позволяет предоставить на рассмотрение свои признаки с последующим добавлением их в программу, что дает возможность совершенствовать ключи, делая их более пластичными. В дальнейшем это позволит определять растения с учетом специфичных особенностей региона. На рисунке представлен фрагмент логической структуры определителя.



Фрагмент логической
структуры определителя

шенствовать ключи, делая их более пластичными. В дальнейшем это позволит определять растения с учетом специфичных особенностей региона. На рисунке представлен фрагмент логической структуры определителя.

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

Эволюционное сравнение пространственной организации хроматина

М. А. Нуриддинов

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Использование таких методов, как высокопроизводительный захват хромосомной конформации (Hi-C — high throughput chromosome conformation capture) позволило с недостижимой ранее точностью получить данные о контактах между произвольными регионами генома и связать их с конкретной нуклеотидной последовательностью, обнаружить взаимодействие промоторов и энхансеров. Был открыт новый уровень организации хроматина — уровень топологически ассоциированных доменов (ТАДов), для которых показана значимая роль в регуляции экспрессии генов и репликации. Выявлена высокая консервативность архитектуры ТАДов как между разными типами клеток, так и между разными видами.

Несмотря на то, что уже существуют карты контактов для ряда позвоночных и некоторых беспозвоночных животных, дрожжей и растений, данная информация практически не используется для изучения архитектуры хроматина. Ограниченные результаты получены при сравнении отдельных регуляторных элементов и генных кластеров. Тем не менее на данный момент не существует методов полногеномного сравнения архитектуры хроматина разных видов. Разработка и апробация таких методов является целью данной работы.

Созданный нами биоинформационный алгоритм сравнения пространственных контактов позволяет:

- сопоставлять друг с другом контакты между произвольными локусами у разных видов;
- учитывать различия в расстоянии между сравниваемыми локусами;
- рассчитывать ожидаемую частоту контактов в одном виде на основе наблюдаемой для другого;
- оценивать значимость сходства / различия между расчетной и наблюдаемой частотой контактов.

Благодаря использованию разработанных подходов для сравнения архитектуры хроматина эмбриональных стволовых клеток человека и мыши получены списки локусов с эволюционно консервативными контактами и со значимо отличающимися. Показана высокая консервативность пространственной организации хроматина в районах консервативных доменов.

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

Разрушение бактериальной пленки путем блокирования синтазы целлюлозы

А. А. Огарков

Иркутский государственный университет

Большинство (95–98 %) бактерий обитает под бактериальной пленкой — матриком. Бактериальные пленки защищают колонии бактерий от внешнего воздействия. Поэтому у нас возникла идея разрушить матрикс для борьбы с бактериями.

Матрикс состоит в основном из целлюлозы. Сама целлюлоза устойчива к внешним воздействиям, поэтому более разумно нарушить механизм ее синтеза, т. е. воздействовать на специфический белок — синтазу целлюлозы. Выработка целлюлозы начинается тогда, когда с синтазой связывается лиганд (малая молекула). Цель работы состоит в том, чтобы заблокировать функциональный центр белка другим подходящим лигандом.

Взаимодействие веществ с белками можно оценить с помощью моделирования методом молекулярного докинга. В данной работе были использованы AutoDock для визуализации веществ и AutoDock Vina для определения энергии связи лиганда с функциональным центром.

Были проведены исследования энергии связи некоторых флаваноидов с синтазой целлюлозы (BcsA).

Для белков, имеющих энергию связи, близкую к значениям, полученным для c-di-DMP, необходимо провести дальнейшие эксперименты, чтобы экспериментально доказать их воздействие на бактериальные пленки.

1. *Марданова А. М. и др.* Биопленки: основные принципы организации и методы исследования : учеб. пособие., Казань: Изд-во КФУ, 2016.

2. *Mazur O., Zimmer J.* Apo- and cellopentaose-bound structures of the bacterial cellulose synthase subunitBcsZ // J.Biol.Chem. V. 286. P. 17601–17606.

Научные руководители — д-р биол. наук Ю. А. Маркова,
канд. техн. наук, доцент И. С. Петрушин

Разработка методов компьютерного фенотипирования клубней картофеля на основе анализа их цифровых изображений

А. В. Петров

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

В связи с неблагоприятными климатическими изменениями и ростом потребности в продовольствии населения Земли требуется разработка новых высокотехнологичных подходов к селекции новых сортов сельскохозяйственных культур, устойчивых к заболеваниям и абиотическим стрессам, с наибольшим потенциалом урожайности. Разработка быстрых и точных методов определения фенотипических характеристик растений — важная задача в области современной генетики и селекции. У растений, адаптированных к суровым условиям, необходимо оценить большое число признаков, важных для создания новых сортов.

Автоматизация фенотипирования позволяет повысить производительность и точность оценки параметров растения. Цель данной работы — автоматизировать процесс фенотипирования клубней картофеля на основе анализа их цифровых изображений с использованием мобильных устройств.

Предложен протокол для получения снимков клубней картофеля с помощью камеры мобильного телефона. Разработан алгоритм вычисления морфометрических параметров клубня на основе анализа изображения. Проведена оценка точности определения контура клубня разработанным алгоритмом для шести различных условий освещения. Результаты показали, что использование светодиодной вспышки мобильного телефона повышает точность.

Рассмотрена применимость трех алгоритмов сегментации к полученным снимкам: алгоритма фильтрации пикселей по одной из цветовых компонент, k-средних и LDA. Проведено сравнение точности идентификации контуров клубня для этих алгоритмов.

Разработан алгоритм расчета морфометрических параметров клубня для изображений, полученных как с помощью профессиональной камеры, так и с помощью мобильного телефона. Разработанный алгоритм был применен для анализа 60 сортов картофеля, результаты оценки фенотипических характеристик были сравнены с экспертной оценкой. Было показано, что алгоритм дает высокую точность оценки размеров клубня.

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

Моделирование паттернов генетического разнообразия при сложных микроэволюционных сценариях

А. А. Порошина

Лимнологический институт, г. Иркутск

Микроэволюционные процессы, приводящие в конечном итоге к видообразованию, включают в себя в качестве элементарных явлений изменения численности особей, миграцию и нарушения потока генов между группами особей. Комбинации этих процессов приводят либо к филетической эволюции, либо — к дивергентной. В природных условиях, особенно в условиях таких сложных экосистем, как экосистема Байкала, комбинации микроэволюционных процессов могут носить самый причудливый характер и порождать необычные «узоры» генетической изменчивости видов.

К наиболее интересным следам сложных видообразовательных процессов относятся унаследованный полиморфизм, митохондриальная и ядерная интрогрессии. Все эти явления диагностируются по филогенетическим деревьям, они приводят к возникновению масштабных различий между топологиями деревьев, построенных по молекулярным маркерам различной локализации (ядро или цитоплазма). Иногда сестринские виды вообще не предстают на этих деревьях как монофилетические группы.

В настоящей работе мы используем имитационные модели адаптивной динамики для изучения эволюции нейтральных молекулярных маркеров при различных сценариях взаимодействия между сестринскими видами и окружающей средой. Для этого оказалось необходимым добавить к характеристикам «организмов» индивидуально-ориентированной имитационной модели нейтральные маркеры в виде последовательностей «ДНК». Нейтральные «нуклеотидные» последовательности в такой модели должны передаваться от родителей к потомству с вероятностью мутации, имитируя процесс нейтральной молекулярной эволюции. Сопоставляя полученные таким образом данные, можно исследовать различные сценарии эволюционного процесса и использовать методы молекулярной филогении.

В работе обсуждаются результаты моделирования различных микроэволюционных сценариев симпатической эволюции в переменных условиях.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Д. Ю. Щербаков

**Анализ данных высокопроизводительного секвенирования
отдельных хромосом копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*)**

Д. Ю. Прокопов

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

Скорость хромосомной эволюции варьирует между ветвями филогенетического древа. Среди млекопитающих самыми высокими скоростями изменения кариотипов обладают мышевидные грызуны. Сравнительный анализ видов этой группы является перспективным для изучения механизмов хромосомных перестроек.

Кариотип копытного лемминга обладает несколькими особенностями.

1. Необычной системой половых хромосом, характеризующейся транслокацией X-хромосомы на аутосому и отсутствием Y-хромосомы.

2. Большим числом переменных по размеру добавочных хромосом.

В настоящей работе мы провели секвенирование и анализ хромосом-специфических библиотек, полученных как методом сортирования, так и путем микродиссекции для исследования состава всех элементов кариотипа.

Мы исследовали линию клеток, полученную из фибробластов самца *D. torquatus* и показали, что ее кариотип состоит из 45 A-хромосом и 8–14 переменных по размеру B-хромосом. С помощью метода микродиссекции с одной метафазной пластинки мы вырезали 14 B-хромосом, провели амплификацию и мечение ДНК отдельных хромосом, проверили хромосом-специфичность с помощью FISH и секвенировали полученные библиотеки на платформе Illumina MiSeq.

Был проведен поиск районов, представленных на хромосомах, и получены координаты хромосомных перестроек относительно генома *M. musculus*. 13 синтенных районов были обнаружены впервые. Не было обнаружено Y-хромосомных районов ни в одной из библиотек хромосом копытного лемминга.

В составе B-хромосом копытного лемминга обнаружено 8 геномных районов с 14 полными генами и 8 генными фрагментами, показано функциональное обогащение генами, связанных с цитоскелетом клетки.

Проведен кластерный анализ состава повторенной ДНК копытного лемминга, в ходе которого выяснилось, что B-хромосомы обогащены ERV3 и обеднены SINE-ретроэлементами.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-00-00146 КОМФИ.

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

Анализ транскриптомных данных генов серотонергической системы на модели крыс с агрессивным поведением по отношению к человеку

К. А. Табанюхов, И. В. Чадаева

Новосибирский государственный аграрный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск,
Новосибирский государственный университет

Исследование фундаментальных молекулярно-генетических механизмов, определяющих предрасположенность к агрессивному поведению, является одной из важных проблем нейробиологии. Для изучения молекулярных механизмов агрессии использовались линии агрессивных и неагрессивных крыс, селекционированные на протяжении более 30 лет в Институте цитологии и генетики СО РАН. Обе линии крыс в течение 70 поколений селектировались по поведению по отношению к человеку (тест на перчатку). В одной из этих линий в ходе селекции крыс отбирали по дружелюбному поведению по отношению к человеку и другим крысам, в другой линии крыс — по агрессивному поведению, оцениваемому по количественной шкале. Агрессивные и неагрессивные (ручные) крысы были использованы в данной работе как модель для анализа молекулярных механизмов агрессивного поведения. Ранее было проведено транскриптомное профилирование, анализ изоформ генов и вариантов альтернативного сплайсинга, в частности, для гена *Grin1*. Также, была проведена оценка экспрессии генов белков, связанных с работой дофамина и серотонина, в вентральной тегментальной области (ВТО) мозга таких крыс на основе РНК-профилирования. Были обнаружены значимые различия в экспрессии генов *Th*, *Ddc*, *Drd2*, *Tph2*, *Htr1a*, *Htr1b*, *Htr5b*, а также дофаминового (*Slc6a3*) и серотонинового (*Slc6a4*) транспортеров между агрессивными и неагрессивными крысами (Н. Н. Кудрявцева и др., 2017). Серотонергические гены в развитии тревожно / депрессивного расстройства и патологии агрессивного поведения у самцов мышей: данные RNA-seq (Новосибирск). Анализ экспрессии генов белков, взаимодействующих с серотонином и дофамином, может улучшить понимание молекулярных механизмов, опосредующих агрессивное поведение у животных.

Гены, кодирующие ферменты синтеза дофамина из тирозина, выше экспрессируются у агрессивных крыс, из чего можно предположить, что дофамин в ВТО агрессивных крыс синтезируется активнее. Вероятно, высокая скорость наработки дофамина в нейронах ВТО агрессивных крыс могла «компенсироваться» работой его транспортера с последующим катаболизмом. В этом случае можно предположить, что наибольший вклад в концен-

трацию дофамина в ВТО рассмотренных крыс из изучаемых белков вносит дофаминовый транспортер. Было обнаружено, что ген дофаминового рецептора второго типа почти в два раза активнее экспрессируется у агрессивных крыс. Рецептор *Drd2* активирует путь фосфатазы А и замедляет высвобождение дофамина из нейрона посредством обратной связи. Ранее неоднократно была показана связь *Drd2* с агрессией у людей.

Полученные результаты важны как для исследования проблемы агрессивности в фундаментальной науке, так и для селекции сельскохозяйственных животных при совместном содержании. Исследование поддержано грантом РНФ.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Ю. Л. Орлов

Разработка компьютерных программ полногеномного анализа кластеров сайтов связывания транскрипционных факторов

А. В. Цуканов

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Исследование регуляции экспрессии генов эукариот в масштабе генома требует изучения сайтов связывания транскрипционных факторов (ССТФ), контролирующих транскрипцию генов, их геномной локализации, определения генов-мишеней ТФ. В последние годы благодаря методам высокопроизводительного секвенирования ChIP-seq (ChIP — Chromatin ImmunoPrecipitation) и другим технологиям, сопряженным с иммунопреципитацией хроматина, появился огромный массив новых данных, позволяющих оценить регуляторный потенциал клетки. Такие данные можно загрузить из открытых баз данных, например, ENCODE (<https://www.encodeproject.org/>) и Cistrome (<http://cistrome.org/db/#/>).

На языке R с использованием библиотек GenomicRanges, AnnotationHub, ChIPeeker из репозитория Bioconductor написаны скрипты для анализа кластеров ССТФ по данным геномных координат пиков ChIP-seq. Рассмотрены статистические особенности распределения сайтов связывания транскрипционных факторов. Определены кластеры сайтов, содержащие три и более сайта связывания различных транскрипционных факторов, описано их расположение относительно регуляторных районов генов. Показано наличие геномных участков, совместно занятых несколькими сайтами различных факторов, определенных с помощью ChIP-seq. Такие участки можно назвать «горячими точками» совместной локализации ТФ.

Анализ расположения сайтов показал, что отдельные участки генома заняты несколькими различными транскрипционными факторами одновременно, связанными с геномной ДНК на близком, до десятка нуклеотидов, расстоянии. Обогащенные связыванием ТФ районы могут появиться по случайным причинам — близкое расположение сайтов еще не означает их кооперативного связывания. Задача требует развития статистических моделей анализа распределения сайтов. В то же время некоторые геномные районы, обогащенные сайтами связывания, могут функционировать как дистальные энхансеры и действительно привлекают кооперативно связывающиеся белковые факторы, физически контактирующие друг с другом при связывании с ДНК.

Научный руководитель — д-р биол. наук Ю. Л. Орлов

**Метагеномный анализ микробных сообществ
соленого озера № 48 НСО**

А. А. Шипова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Микробные сообщества соленых озер интересны для изучения как с фундаментальной, так и с прикладной точек зрения. В частности, исследования палеобиологов, изучающих следы микроорганизмов в геологической летописи, показали, что некоторые следы микробных сообществ имеют прямые аналоги в виде микробных матов, которые наиболее часто формируются в экстремальных для жизни условиях, таких как соленые озера. Также изучение микробных сообществ соленых озер способствует расширению наших знаний о генетическом разнообразии бактерий. С другой стороны, бассейны с высоким содержанием солей представляют все больший интерес для ведения хозяйственной деятельности, в связи с чем понимание законов функционирования населяющих их сообществ становится все более необходимым. Метагеномными методами описано большое количество экстремальных экосистем нашей планеты, но биоразнообразие соленых озер России остается малоисследованным, что делает особенно актуальным работы в данном направлении.

В работе исследуется озеро Соленое, расположенное в Кулундинской степи недалеко от города Карасук. Озеро отличается регулярным формированием микробных сообществ с большой биомассой. Для работы были взяты наиболее метаболически активные сообщества озера: фотосинтезирующий микробный мат и верхний слой донных отложений, зона активной деструкции. Общая ДНК из микробных сообществ была выделена с использованием набора NucleoSpin Soil. Библиотеки для секвенирования были подготовлены в ЦКП Геномных исследований. Секвенирование было выполнено в ООО «ЦГРМ Генетико» на приборе NovaSeq. Данный прибор в настоящее время является самым производительным среди секвенаторов второго поколения.

В докладе на конференции будут представлены данные о филогенетическом разнообразии исследуемых сообществ. Метагеномный анализ микробных сообществ с использованием такого большого объема данных в России проведен впервые.

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

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

УДК 57.085.23

Биологические эффекты пестицидов в кратковременной культуре эритроцитов человека

Н. С. Арестова

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Современное сельское хозяйство невозможно без массового использования пестицидов. Увеличение концентрации пестицидов в воде и почве представляет серьезную опасность: для них показаны тератогенные эффекты, репродуктивная токсичность, нарушения гормонального гомеостаза. Это определяет необходимость оценки токсичности пестицидов в модельных системах.

В работе мы изучали влияние триазольного фунгицида тебуконазола (ТБ) и триазинового гербицида метрибузина (МЕТ) на процессы трансформации эритроцитов человека в аномальные морфологические фенотипы и жизнеспособность клеток в условиях кратковременного культивирования *in vitro*.

Было показано, что пестициды в исследованных концентрациях (0,04мМ, 0,4мМ и 4мМ) значительно увеличивают количество аномальных морфологических фенотипов. Дозовые зависимости не были выявлены, но трансформирующая активность ТБ и МЕТ существенно различалась. Через три часа инкубации на среде с МЕТ количество аномальных морфотипов было в четыре раза больше, чем в контроле; на среде с ТБ — в два раза. При этом на среде с МЕТ среди аномальных форм доминировали акантоциты (57 % от всей клеточной популяции). На среде с ТБ доминировали два аномальных морфотипа: акантоциты (33 %) и стоматоциты (27 %).

Трансформация клеток не сопровождалась снижением их жизнеспособности: активность восстановления МТТ для всех исследованных концентраций достоверно не отличалась от контроля. Но при этом МЕТ и ТБ уменьшали сорбционную емкость эритроцитов — активность проникновения в клетки витального красителя метиленового синего резко снижалась при максимальной концентрации 4мМ. При этом увеличивалась сорбционная емкость гликокаликса.

На основании полученных результатов можно заключить, что ТБ и МЕТ в исследованных концентрациях не влияют на жизнеспособность эритроцитов, но обладают мембранотропной активностью: индуцируют перестройки клеточных мембран и трансформацию клеток в аномальные формы.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. Г. Мензянова

**Отдаленные последствия введения дексаметазона
в раннем онтогенезе на когнитивные способности самцов мышей
и экспрессию генов в гиппокампе**

У. И. Батлук

Новосибирский государственный университет

Глюкокортикоиды являются важными стероидными гормонами, регулирующими основные процессы жизнедеятельности. Особую роль эти гормоны играют в адаптации организма к различным стрессам. Сильный стресс наравне с применением глюкокортикоидных препаратов в ранний период жизни, когда идет созревание всех систем организма, может активировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, приводя к нарушению функций различных систем организма, как в раннем, так и во взрослом возрасте.

В нашей работе было показано, что введение дексаметазона в раннем онтогенезе приводит к снижению способности взрослых самцов мышей к пространственному обучению и формированию долговременной памяти, что наблюдалось в тесте «Водного лабиринта Морриса».

Также введение дексаметазона в раннем онтогенезе приводит к снижению веса самцов мышей во взрослом возрасте, снижению тревожности, не влияя на уровень двигательной активности и социального поведения. В основе таких отставленных эффектов введения дексаметазона лежат изменения экспрессии генов. Анализ изменений транскриптома гиппокампа взрослых самцов мышей, которым в раннем онтогенезе вводили дексаметазон, выявил изменение экспрессии 12 генов (три гена с повышенной экспрессией, девять — с пониженной) по сравнению с группой, которым был введен физиологический раствор. Среди генов, повысивших экспрессию, особое внимание привлекает ген *Arc*, который тесно связан с формированием долговременной памяти. Также были обнаружены три гена некодирующих РНК, функция которых не исследована, однако можно предположить, что эти некодирующие РНК могут участвовать в регуляции генов, которые вовлечены в процессы формирования долговременной памяти.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. П. Бондарь

Получение и исследование капсулированных форм доксорубицина на основе нейлона-6

Е. Н. Бобрикова

Новосибирский государственный университет

На данном этапе развития современной науки большое внимание уделяют разработке систем доставки лекарственных средств. Одним из самых актуальных объектов для направленной доставки являются противораковые препараты, например, препараты, используемые в полихимиотерапии (ПХТ). Одним из часто используемых лекарств, входящих в ПХТ, является доксорубин.

Доксорубин (DOX) относится к семейству антрациклиновых антибиотиков. Механизм противоопухолевой активности DOX включает интеркаляцию ДНК и разрушение нитей, ингибирование топоизомеразы II, образование металлических комплексов с железом или медью и образование свободных радикалов. Клиническое использование DOX ограничено из-за его высокой токсичности, что обычно вызвано окислительным стрессом. Капсулирование цитостатика, адресная доставка и его контролируемое высвобождение могут повысить эффективность и снизить неблагоприятные эффекты стандартной ПХТ. Целью работы было получение и исследование капсулированных форм доксорубицина на основе нейлона-6.

В ходе работы были получены и охарактеризованы капроновые частицы на основе нейлона-6. Установлены оптимальные условия сорбции DOX на частицы. Определены кинетические параметры и максимальная эффективность сорбции DOX на частицы, которая достигала $150,6 \pm 12,4$ мкг DOX на мг частиц при pH 8,7. Исследованы параметры высвобождения препарата в различных условиях. Установлено, что эффективность высвобождения DOX возрастает при снижении pH раствора. Увеличение объема инкубационной смеси при неизменном количестве загруженных частиц приводит к повышению количества высвобожденного доксорубицина, а при проведении нескольких циклов полной смены раствора наблюдается достижение постоянного уровня извлечения препарата на каждом этапе.

Таким образом, в ходе работы получены и охарактеризованы капсулированные формы DOX. На данном этапе ведутся активные цитологические работы и эксперименты на лабораторных животных, которые позволят определить эффективность капсулированных форм доксорубицина.

Научный руководитель — канд. хим. наук Е. В. Дмитриенко

Полногеномный анализ бактериофага KP8, специфичного к бактерии *Klebsiella pneumoniae*

О. В. Боковая, М. Р. Клопотова, Ю. Н. Козлова, А. Ю. Тикунов
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

Klebsiella pneumonia — это грамм-негативный оппортунистический зоокомиальный патоген, ассоциированный в основном с инфекционной пневмонией и инфекциями урогенитального тракта. Штаммы рода *Klebsiella* могут обладать множественной устойчивостью к антибиотикам, например, в 2017 году был обнаружен штамм, устойчивый ко всем известным антибиотикам. Коктейли бактериофагов против лекарственно-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae* могут быть использованы как биологическое лекарство.

В работе был охарактеризован клебсиеллезный бактериофаг KP8 из коллекции экстремофильных микроорганизмов и типовых культур (КЭМТК) ИХБФМ СО РАН. KP8 обладает узким спектром хозяев и специфичен к штамму *Klebsiella pneumoniae* КЭМТК356. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии бактериофаг был отнесен к семейству *Podoviridae*.

Из препарата фага KP8 была выделена геномная ДНК и проведено ее полногеномное секвенирование. Геномная последовательность фага KP8 была аннотирована и депонирована в GenBank Database (MG922974). Размер генома составил 73679 т. н. п., при этом G+C состав генома равен 44,2 %. Последовательность содержит 94 предполагаемых ОРТ. Из 94 ОРТ более половины гипотетические и имеют неизвестные функции, в то время как 23 ОРТ имеют гомологию с генами фагов семейства *Podoviridae* из родов *N4virus* и *G7cvirus*. Были обнаружены ОРТ с функциями метаболизма ДНК и РНК, упаковки ДНК, и структурными функциями. Геном фага KP8 содержит три РНК-полимеразы, ответственные за экспрессию ранних и поздних генов. За процесс репликации фага отвечают ДНК геликаза, ДНК полимеразы I, ДНК праймаза, белок, связывающий одноцепочечную ДНК и rIIA- and rIIB-подобные белки. Большая и малая субъединицы терминазы осуществляют упаковку ДНК в незрелую головку. Кластер структурных белков был обнаружен, но только 6 ОРТ имеют определенную функцию. Литическая кассета состоит из эндолизина, Rz/RzI спанина и предположительно холина. Концевые повторы генома фага составили 404 п. н.

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

**Уровень повреждений ДНК, определяемый в цельной крови
и лимфоцитах пациентов с рассеянным склерозом.**

Борисов В., Леонова Э., Калныня Й., Мягова Н.

Латвийский университет, г. Рига, Латвия, Даугавпилсский университет,
Латвия, Центр морской медицины, г. Рига, Латвия

Окислительный стресс считается одним из важнейших факторов в патогенезе многофакторного рассеянного склероза. Разрывы ДНК могут быть последствием окислительного стресса, однако данных об этом мало, а результаты исследований противоречивы. В связи с этим целью данного исследования было определить уровень одонитевых разрывов ДНК в цельной крови и изолированных лимфоцитах с помощью метода ДНК-комет.

Образцы крови для исследования были взяты у группы здоровых субъектов и пациентов с рассеянным склерозом. Результаты метода ДНК-комет на цельной крови и лимфоцитах анализировались статистически, чтобы выявить корреляцию между разрывами ДНК у здоровых субъектов и пациентов с рассеянным склерозом.

В полученных результатах наблюдается тенденция увеличения уровня разрывов ДНК в образцах, взятых у пациентов с рассеянным склерозом. Также можно заметить разницу в уровне разрывов ДНК между образцами, взятыми у здоровых субъектов, и образцами, взятыми у пациентов с рассеянным склерозом. Статистическая значимость еще не достигнута, но исследование продолжается, а группы здоровых субъектов и пациентов с рассеянным склерозом будут увеличены.

Научный руководитель — проф. Сьякте Н.

Получение рекомбинантного белка Cpf1

В. А. Васиховская

Новосибирский государственный университет

Получение фермента Cpf1 представляет собой перспективную биотехнологическую задачу с научной и экономической точек зрения. Белок Cpf1 является эффекторным белком с эндонуклеазной активностью в системе адаптивного иммунитета прокариот CRISPR. Система CRISPR основана на расщеплении чужеродной ДНК, при этом предварительно происходит вырезание участка инвазивной ДНК, встраивание его в хозяйский геном (интеграция спейсера) и при повторном заражении со спейсера будет транскрибироваться нацеливающая эндонуклеазу мишень-специфичная РНК. Такой механизм позволяет получить инструмент для редактирования генома *in vivo*, но, кроме того, систему можно использовать и *in vitro* для клонирования и гидролиза целевой ДНК в конкретном месте, что не всегда можно сделать при помощи эндонуклеаз рестрикции.

Белок Cpf1, открытый в 2015 году, выполняет аналогичные функции по сравнению с более хорошо изученным белком Cas9, однако имеет ряд преимуществ. В настоящее время наборы на основе CRISPR-систем имеются только у зарубежных производителей, поэтому в сотрудничестве с компанией «СибЭнзайм» (г. Новосибирск) целью работы являлось получение отечественного коммерчески доступного рекомбинантного белка.

В ходе работы был произведен теоретический поиск последовательностей генов *cpf1* в геноме нескольких штаммов бактерий рода *Moraxella*, наличие гена подтверждено экспериментально как минимум у трех штаммов. Методом прогулки по хромосоме была установлена последовательность начала и конца гена для штамма *Moraxella bovis*. Целевой ген был успешно клонирован по методу гомологичной рекомбинации в составе экспрессирующего вектора в виде двух различных конструкций. При поддержке компании «СибЭнзайм» была осуществлена экспрессия гена *cpf1* в одной из конструкций, выделение целевого белка и проверка его активности.

Научные руководители — канд. биол. наук М. В. Романенко

**Белок лактаптин как доставщик нуклеиновых кислот
в клетки человека**

Е. А. Голубицкая

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

Лактаптин, фрагмент к-казеина молока человека и его рекомбинантный аналог RL2 обладают цитотоксической активностью по отношению к раковым клеткам млекопитающих *in vitro*. На основании данных о первичной структуре и механизме проникновения RL2 в клетки, этот пептид был отнесен к пептидам класса CPP (Cell-penetrating peptides). Они способны проникать через плазматическую мембрану живых клеток и доставлять связанные с ними молекулы (наночастицы, липосомы, белки, антибиотики и нуклеиновые кислоты) внутрь клетки в составе как нековалентных, так и ковалентных комплексов.

Целью данной работы было изучение способности RL2 доставлять нуклеиновые кислоты в составе нековалентных комплексов в клетки человека на примере ДНК плазмиды pEGFP, несущей ген зеленого флуоресцентного белка EGFP. Методом динамического светорассеяния было показано, что с увеличением количества белка в составе комплекса, размер комплексов изменяется незначительно и составляет около 110 нм. Поверхностный заряд комплексов положителен и по мере увеличения содержания в них RL2 стремится к заряду олигомерной формы RL2. Изучение комплексов в присутствии конкурентного полианиона гепарина показало, что стабильность комплекса пропорциональна содержанию RL2 в них.

Эффективность доставки нуклеиновых кислот в комплексе с RL2 в клетки анализировали на модели аденокарциномы легкого A549 методом флуоресцентной микроскопии. При трансформации клеток таким комплексом молекулы ДНК плазмиды pEGFP проникают в клетки, а количество трансформированных клеток возрастает с увеличением доли RL2 в составе комплекса.

В совокупности полученные данные позволяют заключить, что RL2 способен эффективно доставлять в клетки ДНК плазмиды, причем эффективность трансформации клеток пропорциональна поверхностному заряду комплексов.

Работа поддержана грантом ПФНИ ГАН на 2013–2020 гг. (VI.62.1.5,0309-2016-0003).

Научные руководители — канд. биол. наук О. А. Коваль,
канд. хим. наук И. А. Пышная

Исследование микроРНК в процессе перепрограммирования фибробластов лабораторной крысы к плюрипотентному состоянию

Г. И. Давлетшина

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

МикроРНК — это малые некодирующие РНК, которые участвуют в регуляции экспрессии генов во всех типах клеток. Основная функция микроРНК — посттранскрипционная регуляция экспрессии генов. Множество исследований показывают, что некоторые микроРНК экспрессируются только в эмбриональных стволовых клетках и, таким образом, поддерживают плюрипотентное состояние, а также участвуют в перепрограммировании соматических клеток к плюрипотентному состоянию.

В настоящее время известно несколько основных факторов плюрипотентности: Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc, Lin28, Nanog. Однако были получены индуцированные плюрипотентные стволовые клетки без участия этих факторов, а с использованием только микроРНК. Поиск новых микроРНК, которые позволят с более высокой эффективностью получать ИПСК, является важной задачей для регенеративной медицины.

Данная работа направлена на изучение функций микроРНК в процессе перепрограммирования клеток крысы к плюрипотентному состоянию. Ранее в лаборатории эпигенетики развития ИЦиГ СО РАН было установлено, что 14 микроРНК: miR-743a, miR-743b, miR-742, miR-883, miR-471, miR-3551, miR-741, miR-463, miR-880, miR-878, miR-881, miR-871, miR-3580, miR-465, которые расположены на X-хромосоме, в локусе протяженностью 45 т. п. н., активно транскрибируются в плюрипотентных стволовых клетках, но их экспрессия в фибробластах отсутствует. Для выяснения роли этих микроРНК в процессе перепрограммирования был проведен их нокаут при помощи системы CRISPR/Cas9.

В результате были получены линии клеток с делециями пяти участков протяженностью от 3 т. п. н. до 45 т. п. н., в которых сгруппированы гены исследуемых микроРНК. Кроме того, была оценена способность к перепрограммированию клеток с нокаутом всех 14 исследуемых микроРНК. Полученные результаты позволяют расширить знания в области плюрипотентных стволовых клеток и о влиянии микроРНК на процессы перепрограммирования.

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

**Новые производные олигодезоксинуклеотидов, содержащие
N-(1-бутансульфонил)-фосфорамидные
и N-(1-гексансульфонил)-фосфорамидные группы**

А. Ш. Держалова

Новосибирский государственный университет

Производные олигонуклеотидов рассматриваются в настоящее время как перспективная основа для создания терапевтических препаратов для лечения рака, генетических болезней, бактериальных или вирусных инфекций. По сравнению с лекарствами на основе малых молекул олигонуклеотиды обладают уникальной способностью высокоизбирательно связываться с комплементарными участками клеточных РНК и направленно воздействовать на биологические процессы, в которых принимают участие молекулы-мишени. Однако широкому внедрению терапевтических олигонуклеотидов в медицинскую практику препятствует не решенная до сих пор проблема их эффективной доставки в клетки.

В результате рационального дизайна производных олигонуклеотидов, которые могут обладать улучшенной по сравнению с существующими аналогами способностью проникать в клетки, в данной работе были синтезированы новые производные олигодезоксирибонуклеотидов с N-(1-алкансульфонил)-фосфорамидными группами во всех межнуклеотидных положениях. Олигонуклеотиды, содержащие N-(1-бутансульфонил)-фосфорамидные (бузилфосфорамидные) и N-(1-гексансульфонил)-фосфорамидные (гезилфосфорамидные) группы, были получены путем автоматизированного твердофазного синтеза с помощью реакции Штаудингера между иммобилизованным на полимерном носителе фосфиттриэфиром и соответствующим сульфонилазидом, очищены с использованием методов обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии и гель-электрофореза и охарактеризованы с помощью масс-спектрометрии.

Способность модифицированных олигонуклеотидов проникать в клетки человека была исследована с помощью конфокальной лазерной флуоресцентной микроскопии на клетках рака молочной железы MDA MB 231. Было показано, что олигонуклеотиды, замещенные бузил-фосфорамидными и гезилфосфорамидными группами, обладают улучшенной проникающей способностью в клетки линии MDA MB 231 в отсутствие трансфекционного агента как по сравнению с немодифицированными олигонуклеотидами, так и олигонуклеотидами с другими модификациями.

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

**Полногеномный анализ триметилирования гистона H3
в префронтальной коре головного мозга мышей в норме
и при хроническом социальном стрессе**

Н. В. Ещенко

Новосибирский государственный университет

На сегодняшний день одним из самых распространенных психических заболеваний человека является депрессия. Одна из причин развития данного заболевания — хронический социальный стресс.

Было показано, что хронический социальный стресс приводит к изменению экспрессии большого количества генов в префронтальной коре головного мозга мышей, причем уровень экспрессии находится в зависимости от длительности стресса. Среди генов, изменивших свою экспрессию, были найдены те, что кодируют ферменты метилирования гистона H. Это позволяет предположить влияние эпигенетических факторов на регуляторные участки генов, участвующих в формировании реакции на стресс. Целью данной работы является выявление эпигенетических модификаций в префронтальной коре головного мозга мышей, связанных с формированием устойчивого депрессивного состояния.

Для формирования депрессивно-подобного поведения у животных была использована модель хронического социального стресса. Суть данной модели заключается в приобретении опыта социальных поражений в результате агрессивных взаимодействий со стороны партнера. Нами были сформированы группы S30 (с опытом поражений в течение 30 дней) и S10 (с опытом поражений в течение 10 дней). На образцах префронтальной коры головного мозга мышей была проведена иммунопреципитация хроматина. В качестве эпигенетического маркера было выбрано триметилирование гистона H3 по четвертому лизину (H3K4Me3). Результаты секвенирования демонстрируют изменение паттерна распределения H3K4Me3 в зависимости от длительности стресса, при этом эти изменения не всегда коррелируют с изменением экспрессии генов.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. П. Бондарь

**Молекулярные механизмы антипролиферативного
и интерферон-индуцирующего действия короткой двуцепочечной РНК**

М. И. Жоров

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

Экзогенные нуклеиновые кислоты способны активировать иммунную систему в зависимости от их структуры, последовательности и способа проникновения в организм. Была обнаружена короткая двуцепочечная РНК, которая оказывает антипролиферативное и интерферон-индуцирующее действие *in vitro*, а также подавляет рост опухоли и метастазирование *in vivo*.

Для определения механизмов антипролиферативного действия isРНК мы с помощью shРНК-кодирующих лентивирусов получили клеточные линии KB-3-1 и A549 со стабильно выключенной экспрессией генов, потенциально вовлеченных в сигналинг дцРНК. Результаты показали, что селективное выключение экспрессии PKR и RIG-I блокирует антипролиферативный эффект isРНК, тогда как IRF3, MDA5 и TLR3 не вовлечены в антипролиферативную активность isРНК. Зависимость эффекта isРНК от PKR подтверждается результатами, полученными с использованием специфического ингибитора PKR, 2-аминопурина.

Следующим этапом было определение клеток-эффекторов isРНК. Индивидуальные типы иммунных клеток были выделены из PBMC методом иммуномагнитной сорбции. Исследование интерферон-индуцирующей активности isРНК в разных типах иммунных клеток показало, что эффекторными клетками, опосредующими иммуностимулирующую активность isРНК, являются антиген-представляющие клетки врожденного и приобретенного иммунитета, а именно дендритные клетки и моноциты.

Исследование было поддержано Российским научным фондом (грант № 16-15-10105).

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. О. Кабилова

Концентрация ионов фтора в моче лиц, проживающих в различных районах города Красноярска

К. Р. Жуланова

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

По состоянию атмосферного воздуха г. Красноярск относится к числу наиболее загрязненных городов России. Антропогенные источники, обеспечивающие основной объем выбросов фтористых соединений в атмосферу на территории Красноярска, образуют предприятия алюминиевой промышленности. Известно, что на уровне организма дефицит фтора приводит к значительному росту числа зубных заболеваний, а при его избытке отмечается развитие флюороза, нарушение работы печени и сердечно-сосудистой системы.

Содержание ионов фтора в водопроводной воде и моче лиц, проживающих в различных районах города Красноярска, определяли потенциометрическим методом с использованием фторселективного электрода. В исследовании приняло участие 20 женщин в возрасте от 20 до 30 лет, работающих и проживающих в районе Академгородка (10 человек) и в районе Зеленой рощи (10 человек) города Красноярска. Все женщины, участвовавшие в исследовании, не имели хронических заболеваний. Статистическую обработку результатов проводили непараметрическим методом с помощью критерия Манна-Уитни.

По данным ООО «Краском» города Красноярска водопроводная вода не фторируется. При сопоставлении полученных концентраций фтора (в мг/л) в питьевой водопроводной воде, отобранной в районе Зеленой рощи ($0,0587 \pm 0,0007$) и Академгородка ($0,0574 \pm 0,0004$), существенных различий не выявлено. При этом ПДК по фторидам для водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения составляет 0,75–1,5 мг/л. Однако в результате исследования мочи лиц, проживающих в районе Зеленой рощи, было обнаружено достоверное повышение концентрации фторид-ионов — 3,21 (2,01; 4,01) по сравнению с группой лиц, проживающих в Академгородке — 0,67 (0,28; 1,06), при $P = 0,0002$. Из литературных данных известно, что нормальное содержание фторидов в моче составляет около 0,5 мг/кг.

Таким образом, полученные результаты позволяют констатировать, что на фоне пониженной концентрации фтора (ниже гигиенической нормы) в питьевой водопроводной воде в изученных районах г. Красноярска у жителей Зеленой рощи (района, территориально расположенного вблизи алюминиевого завода) содержание ионов фтора в моче выше физиологической нормы в четыре раза.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Ю. С. Акопова

**Анализ уровня мРНК генов, связанных с окислительным стрессом,
у крыс с наследственной индуцированной стрессом
артериальной гипертонией (НИСАГ)**

М. А. Журавина

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Гипертоническая болезнь (ГБ) широко распространена в современном обществе. Она может быть причиной инфаркта миокарда, инсульта и сердечной недостаточности. Одним из факторов развития ГБ является хронический эмоциональный стресс. Линия крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертонией (НИСАГ) была получена в Лаборатории эволюционной генетики ИЦиГ в результате отбора на повышенную реакцию систолического артериального давления (АД) на острый стресс.

Помимо четырех основных систем, регулирующих АД (ренин-ангиотензиновая, гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная, симпато-адреналовая и регуляция водно-солевого гомеостаза), есть тканевые, в частности, паракринный вазодилататор — оксид азота. Ранее была показана отрицательная корреляция биодоступности оксида азота в крови и уровня АД у НИСАГ.

На биодоступность оксида азота оказывает влияние и экспрессия гена *eNOS*, и увеличение концентрации активных форм кислорода (ROS), которое возникает при дисбалансе между антиоксидантными ферментами и ферментами, метаболизирующими ROS. Были показаны снижение активности супероксид-дисмутазы в крови и пониженная концентрация восстановленного глутатиона в крови НИСАГ. Были обнаружены достоверные изменения уровня мРНК генов, связанных с окислительным стрессом, в мозговом и корковом веществе почек крыс НИСАГ.

На модели мышей с дефицитом зрелых лимфоцитов показана сниженная реакция АД на введение ангиотензина II (Ang II). Таким образом, предположено участие лимфоцитов в реализации эффектов Ang II.

Целью нашего исследования является анализ уровня мРНК генов, связанных с окислительным стрессом, у крыс линии НИСАГ. Объектом исследования были трехмесячные гипертензивные крысы НИСАГ и крысы WAG в качестве нормотензивного контроля.

Нами были обнаружены изменения уровня мРНК исследуемых генов в тканях крыс НИСАГ, на основании которых можно говорить об участии окислительного стресса в возникновении стресс-индуцированной формы ГБ.

Научный руководитель — д-р биол. наук А. Л. Маркель

Получение новых полифторированных производных олигонуклеотидов по реакции Штаудингера

А. Е. Захрямина

Новосибирский государственный университет

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

В настоящее время синтез модифицированных олигонуклеотидов является сферой повышенной исследовательской активности. Терапевтическое действие большинства известных модифицированных аналогов олигонуклеотидов основано на использовании антисмыслового механизма — ингибировании трансляции за счет высокоспецифичного связывания с комплементарным участком последовательности мРНК гена-мишени с последующим блокированием биосинтеза соответствующего белка. Необходимую для применения *in vivo* биологическую устойчивость антисмысловых олигонуклеотидов можно обеспечить путем химической модификации межнуклеотидной фосфатной группы.

В нашей лаборатории ведутся исследования по использованию реакции Штаудингера — взаимодействия азидов с фосфиттриэфирами — для функционализации межнуклеотидного положения в олигонуклеотиде в процессе автоматизированного твердофазного синтеза. Приоритетной задачей в рамках этого подхода является целенаправленный поиск новых производных олигонуклеотидов, способных эффективно проникать в клетки.

Полифторированные соединения характеризуются необычными свойствами, которые способствуют их широкому применению в промышленности и научных исследованиях. В данном проекте были впервые получены производные олигодезоксирибонуклеотидов, содержащие N-(перфтор-1-октансульфонил)-фосфорамидную и N-(2,2,2-трифторэтансульфонил)-фосфорамидную межнуклеотидные группы. Было показано, что синтезированные соединения могут образовывать устойчивые комплементарные комплексы как с ДНК, так и с РНК.

Научный руководитель — канд. хим. наук С. В. Васильева

**Анализ системы эксцизионной репарации оснований ДНК в клетках
голого землекопа (*Heterocephalus glaber*)**

Т. П. Земерова

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

Голый землекоп (*Hgl*) является интересным объектом для исследования репарации ДНК, поскольку он обладает самой высокой продолжительностью жизни среди грызунов без выраженных признаков старения и не склонен к раковым заболеваниям. Одной из основных причин старения и онкотрансформации являются повреждения ДНК и мутации. В клетках живых организмов целостность генома поддерживается с помощью репарации ДНК, поэтому эффективность этих процессов может оказывать значительное влияние на продолжительность жизни. Эксцизионная репарация оснований (BER) — один из основных путей репарации ДНК — направлена на удаление из ДНК поврежденных оснований, которое включает вырезание оснований из цепи, расщепление сахарофосфатного остова, ресинтез ДНК и лигирование разрыва цепи.

В данной работе методом ПЦР в реальном времени проведен сравнительный анализ уровней мРНК, кодирующих ряд белков BER: PARP1, PARP2, APE1, XRCC1, Lig3 и Pol β в клетках *Hgl* и домовый мыши (*Mmu*). Для повреждения ДНК клетки облучали ультрафиолетовым (УФ) светом и затем культивировали их в течение одного, трех, девяти или двадцати четырех часов. В клетках живых организмов УФ-излучение, в частности, индуцирует окислительные повреждения оснований ДНК, которые репарируются системой BER. В обоих типах клеток изменение уровней соответствующих мРНК при их культивировании после УФ-облучения не превышало двух раз.

При помощи функциональных тестов с использованием в качестве субстрата ДНК-дуплексов с одиночными и кластеризованными повреждениями была определена активность участвующих на ключевых стадиях BER ферментов в экстрактах клеток *Hgl* и *Mmu*, не обработанных ДНК-повреждающими агентами. AP-эндонуклеазная и урацил-ДНК-гликозилазная активности зависели от типа субстрата и незначительно отличались в экстрактах клеток *Hgl* и *Mmu*. Скорость реакции поли-АДФ-рибозилирования (один из ключевых регуляторных механизмов BER) в экстрактах клеток *Hgl* в 4,5–5 раз выше, чем в экстрактах клеток *Mmu*.

Работа выполнена при поддержке РНФ, проект 14-24-00038.

Научный руководитель — канд. хим. наук М. М. Кутузов

Изучение особенностей процесса аутофагии при ее индукции и ингибировании в печени преждевременно стареющих крыс OXYS

Е. А. Золотенкова, М. А. Тюменцев

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Аутофагия — это многоэтапный процесс доставки в лизосомы для последующей деградации цитоплазматического материала, главный механизм деградации долгоживущих белков и единственный — деградации органелл. Этот процесс участвует в сохранении клеточного гомеостаза, удалении поврежденных белков и органелл и необходим для поддержания метаболизма клетки в условиях дефицита энергии и питательных веществ. С возрастом интенсивность аутофагии снижается. Известно, что патогенез многих связанных со старением заболеваний, в том числе нейродегенеративных, связан с нарушением аутофагии, однако механизмы этих нарушений изучены недостаточно. Настоящая работа направлена на исследование вклада изменений аутофагии в раннее развитие возраст-зависимых заболеваний у крыс OXYS — уникальной модели преждевременного старения. Цель исследования — изучение особенностей процесса аутофагии при ее индукции и ингибировании в печени крыс OXYS.

Работа выполнена на крысах-самцах OXYS и Вистар (контроль) в возрасте четырех месяцев ($n = 60$). Для индукции аутофагии применялось 48-часовое голодание, а для ингибирования — инъекции хлорохина. Содержание белков-маркеров аутофагии (ATG7, p62 и LC3) оценивали методами Вестерн-блот анализа и иммуногистохимии, образование аутофагосом — с помощью электронной микроскопии (ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН).

Показано, что введение хлорохина снижало массу печени крыс обеих линий, массу тела — только у крыс OXYS. Введение хлорохина на фоне голодания замедляло снижение массы тела у крыс Вистар, но не у крыс OXYS. Методом секвенирования по Сенгеру было подтверждено наличие в геноме крыс OXYS несинонимичной однонуклеотидной замены в гене *Pik3c2b*, продукт которого участвует в регуляции аутофагии. По нашим предварительным данным, в печени крыс OXYS активность аутофагии снижена уже в молодом возрасте.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. С. Кожевникова

Роль ядерных рецепторов AR и ER в регуляции экспрессии микроРНК

Т. С. Калинина, В. В. Конончук

Новосибирский государственный университет,

Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАН, г. Новосибирск

Изменение экспрессии микроРНК, важных регуляторов экспрессии генов, может происходить в результате воздействия ксенобиотиков, часть которых представлена эндокринными разрушителями. Так, инсектицид дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), активное использование которого в прошлом привело к мировому загрязнению данным соединением, обладает эстрогенными и антиандрогенными свойствами. Нарушение экспрессии генов, находящихся под контролем эстрогенового и андрогенового рецепторов (ER и AR), в конечном итоге может приводить к нарушению регуляции клеточного цикла, что говорит о возможной роли ДДТ в увеличении риска инициации гормонозависимой опухоли, которая, среди прочего, сопровождается нарушением экспрессии микроРНК. Целью работы является исследование экспрессии микроРНК, потенциально регулируемых рецепторами AR и ER, в культурах клеток человека, обработанных ДДТ, и в образцах рака молочной железы.

В первичных культурах нормальных и трансформированных клеток эндометрия человека, обработанных ДДТ, был измерен уровень микроРНК (miR), промоторы которых содержали сайты связывания AR или ER. Выявлено достоверное увеличение экспрессии miR-190b, -27a, -23a, -24 в нормальных клетках под действием ДДТ. В злокачественных клетках уровень ER- и AR-регулируемых miR-27a, -23a, -24 снижался, что вероятно связано с нарушенной активностью ER и антиандрогенными свойствами ДДТ. Показано изменение под действием ДДТ уровня мРНК генов-мишеней выявленных микроРНК — *Apafl* и *Htra3*. Уровень исследуемых микроРНК также был измерен в образцах злокачественных опухолей молочной железы. При люминальных типах опухоли выявлено увеличение экспрессии miR-190b в семь-девять раз. Уровень miR-24, -27a, -23a увеличивался только в образцах люминального рака типа А, в случае типа В уровень данных микроРНК, а также AR-регулируемой miR-190a снижался.

Таким образом, нарушение экспрессии микроРНК может происходить в результате изменения активности ядерных рецепторов ER и AR под действием ксенобиотиков, в частности, ДДТ.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Л. Ф. Гуляева

Определение константы полуингибирования ацетилхолинэстеразы капсаицином и грубым экстрактом красного перца

А. В. Каплун

Новосибирский государственный университет,
Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАН, г. Новосибирск

Существует большое количество социально значимых заболеваний (болезнь Альцгеймера, миопатия, глаукома), которые связаны с нарушением активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ), поэтому перед современной фармакологией стоит задача поиска веществ, с помощью которых можно ингибировать АХЭ. Существуют вещества, способные обратимо или необратимо ингибировать этот фермент. Ингибиторы обратимого типа действия широко используются в качестве лекарственных средств. Актуальность нашей работы в том, что хотя и существуют лекарства, способные ингибировать АХЭ (галантамин, прозерин), поиск новых малотоксичных ингибиторов данного фермента необходим для более успешного лечения заболеваний.

Целью нашей работы было исследование потенциальных ингибиторов АХЭ, таких как капсаицин, и веществ, входящих в состав грубого экстракта красного перца. Мы определили константу полуингибирования капсаицина для точной оценки его действия в отношении активности АХЭ.

В качестве модели использовалась АХЭ электрического угря (тип V-S). В данной работе мы использовали четыре разные концентрации капсаицина и экстракта перца. Для улучшения растворимости капсаицина мы модифицировали стандартный, для определения активности АХЭ, протокол Элмана, добавив в реакционные буферы этиловый спирт. В качестве контроля был использован фармакопейный препарат галантамин, впервые выделенный из *Galanthus woronowii*.

В результате работы была оценена активность АХЭ в растворах спирта разной концентрации; была оценена константа полуингибирования капсаицином АХЭ, что позволяет рассматривать капсаицин как перспективную молекулу для дальнейшей модификации с целью получения препаратов с более выраженной терапевтической активностью.

Научный руководитель — канд. биол. наук И. Д. Иванов

Анализ генетических полиморфизмов в гене *ТРМТ* у детей с острым лимфобластным лейкозом на территории Красноярского края

А. А. Карнюшка, Р. В. Шайхутдинова
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Известно, что у детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) при химиотерапии генетически обусловленная недостаточность активности фермента тиопуририн-S-метилтрансферазы (*ТРМТ*) может вызывать гематотоксические осложнения (лейкопению, тромбоцитопению, анемию).

Целью настоящей работы явилось выявление полиморфизмов в гене *ТРМТ* у детей с ОЛЛ на территории Красноярского края.

В анализ частоты встречаемости полиморфизмов гена *ТРМТ* включен 51 ребенок с подтвержденным диагнозом ОЛЛ. Выявление полиморфных аллелей *ТРМТ**2, *ТРМТ**3А и *ТРМТ**3 проводили с использованием набора реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» «Фарма — скрин — 2б».

Среди 51 ребенка, обследованного на наличие генетических полиморфизмов *ТРМТ*, шесть имели полиморфные аллели гена *ТРМТ* (табл.), что соответствует частоте встречаемости в Европейской популяции. Из них четыре пациента имеют полиморфизмы *ТРМТ**3А и *ТРМТ**3С и два пациента — только полиморфизм *ТРМТ**3С.

Анализ мутаций *ТРМТ* у детей с ОЛЛ на территории Красноярского края

Генотип <i>ТРМТ</i>	Количество пациентов, $n = 51$ (%)
Гомозиготный «дикий» тип	45 (88,2 %)
Мутантный гетерозиготный тип <i>ТРМТ</i> *2, <i>ТРМТ</i> *3А и <i>ТРМТ</i> *3С	6 (11,8 %) из них: <i>ТРМТ</i> *2 — 0 (0 %); <i>ТРМТ</i> *3А — 4 (66,7 %); <i>ТРМТ</i> *3С — 6 (100 %)

Кроме того, у 12 пациентов, включенных в анализ на наличие полиморфизмов *ТРМТ*, имелись транслокации, ассоциированные с ОЛЛ и обнаруженные нами ранее при проведении анализа на наличие транслокаций с помощью биологических микрочипов [1]. В проведенных исследованиях Чуповой Н. В. была описана корреляция между полиморфизмом в гене *ТРМТ* и транслокацией $t(12;21)$ ETV6/RUNX1. Из 12 обследованных нами пациентов у трех (25 %) были обнаружены полиморфные аллели гена *ТРМТ*: у двух пациентов с $t(12;21)$ ETV6/RUNX1 и у одного с $t(4;11)$ TCF3/PBX1. Прогностическое значение таких случаев в литературе не описано, что является темой дальнейшего исследования.

1. Субботина Т. Н., Карнюшка А. А., Шайхутдинова Р. В. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. 2016.

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. Н. Субботина

Персональные культуры клеток рака молочной железы как модели для разработки противоопухолевых подходов

А. А. Карпушина, А. А. Нуштаева
Новосибирский государственный университет,
Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

Для исследования таких сложных явлений, как онкологические заболевания, нужны экспериментальные модели, в той или иной степени упрощающие изучение процесса. Первичные культуры клеток, полученные из определенных тканей — это модельные системы для изучения канцерогенеза, пролиферации, клеточной гибели, механизмов развития лекарственной устойчивости, а также ответов клеток опухоли на действие лекарственных препаратов. Как правило, первичные культуры из нормальных и трансформированных тканей способны поддерживать часть фенотипических признаков родительской ткани. В настоящее время одним из перспективных подходов является персонализация лечения онкологических заболеваний, когда схема лечения назначается исходя из молекулярной характеристики опухоли конкретного пациента — экспрессии определенных ферментов, рецепторов гормонов и белковых факторов. Реализация такого подхода позволит оптимизировать лечение пациента наиболее действенным препаратом (или их комбинацией), к которому клетки опухоли проявляют наибольшую чувствительность. Результатом такого подхода могут быть повышение эффективности лечения и устранение значительных токсических эффектов от химиотерапии.

Получены и морфологически охарактеризованы девять персональных культур клеток рака молочной железы, оценена экспрессия рецепторов стероидных гормонов, ароматазы и маркера клеточной пролиферации *Ki-67*. Для трех культур клеток показана способность к образованию опухолей у иммунодефицитных мышей. Исследована чувствительность полученных культур к химиопрепаратам *in vitro* и *in vivo*.

Работа поддержана грантом ПФНИ ГАН на 2013–2020 гг. (VI.62.1.5,0309-2016-0003).

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

Функциональная роль белковых вариантов однонуклеотидных полиморфизмов гена NEIL2 человека в репарации ДНК

З. И. Каххарова, Д. В. Петрова, И. Р. Грин
Новосибирский государственный университет,
Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

Разработка методов высокопроизводительного секвенирования и биоинформатических подходов к анализу данных привела к накоплению огромного количества информации об однонуклеотидных полиморфизмах (ОНП) генов в популяции человека, связанных с риском развития онкологических заболеваний. Эти данные могут быть полезны для диагностики и терапии только при понимании функций соответствующих белковых вариантов генов и механизмов развития заболеваний.

Белок NEIL2 относится к группе ферментов, называемых ДНК-гликозилазами, роль которых состоит в удалении из ДНК поврежденных оснований и инициации процесса репарации ДНК. NEIL2 отличается от других ДНК-гликозилаз своей уникальной способностью удалять повреждения из участков ДНК в форме «глазков», интермедиатов транскрипции и репликации. Известно, что полиморфизмы гена *NEIL2* ассоциированы с повышенным риском развития онкологических заболеваний, в том числе одного из самых опасных — рака легких. Поэтому изучение свойств полиморфных вариантов белка NEIL2 весьма актуально для предсказания риска онкологических заболеваний.

В данной работе был осуществлен поиск в базе данных по ОНП гена *NEIL2* и анализ соответствующих белковых последовательностей биоинформатическими методами. В результате были выбраны два варианта белка NEIL2(R103W) и NEIL2(P304T), в которых замена аминокислоты могла быть важна для процесса катализа и субстратного узнавания. Методом сайт-направленного мутагенеза были получены ОНП гена и выделены соответствующие рекомбинантные белки NEIL2(R103W) и NEIL2(P304T). Субстратная специфичность полиморфных вариантов была охарактеризована в отношении способности удалять различные окисленные основания из двуцепочечной ДНК, одноцепочечной ДНК и ДНК, содержащей структуру типа «глазков». Активность полиморфного варианта NEIL2(P304T) была на порядок ниже по сравнению с активностью стандартного полиморфного варианта NEIL2, что подтверждает предположение о важности данной замены для процесса узнавания и связывания ДНК.

Научный руководитель — канд. хим. наук И. Р. Грин

**Получение линий клеток человека, дефицитных
по генам эксцизионной репарации оснований и мисматч-репарации,
с использованием системы CRISPR/Cas9**

Д. В. Ким

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

В клетке постоянно возникают повреждения ДНК, которые ставят под угрозу целостность генома. Существует несколько систем, ответственных за исправление повреждений, среди них — эксцизионная репарация оснований (BER) и мисматч-репарация (MMR). В число главных участников BER у человека входят апурин-апиримидиновая (АП-) эндонуклеаза 1 (APEX1) и ДНК-полимераза β (POLB), а узнавание неправильно спаренных оснований в случае MMR инициируют гетеродимеры с белком MSH2. Для исследования роли этих белков предпринимали подходы по созданию нокаутных клеточных линий и мышинных моделей. Такие модельные объекты существуют только для *MSH2*, но не для *APEX1* и *POLB*.

Целью нашего исследования было получение линий клеток человека 293FT, дефицитных по генам *APEX1*, *MSH2* и *POLB*, с использованием технологии CRISPR/Cas9. С помощью биоинформатической платформы «benchling.com» для каждого гена было подобрано по три спейсера направляющих РНК (sgРНК). Затем последовательности спейсеров клонировали в вектор для экспрессии в эукариотических клетках нуклеазы Cas9, EGFP и sgРНК к целевому гену. Полученные конструкторы трансфицировали с помощью липофектамина 3000 в клеточную линию 293FT и производили сортировку GFP-положительных клеток. Эффективность адресации белка Cas9 каждой sgРНК оценивали методом TIDE, который основан на данных секвенирования по Сенгеру. В дальнейшей работе использовали наиболее активные sgРНК к целевым генам с эффективностью 14,9 %, 39,2 % и 29,6 % для генов *APEX1*, *MSH2* и *POLB* соответственно. Для создания клеточных линий 293FT, дефицитных по генам *APEX1*, *MSH2* и *POLB*, было получено 36 субклонов, модифицированных по *POLB*, 133 и 114 субклонов — по *APEX1* и *MSH2*. Скрининг клонов производили с помощью анализа длин рестрикционных фрагментов.

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

**Создание НК-клеточных линий человека с повышенным
цитотоксическим потенциалом с использованием
системы редактирования генома CRISPR/Cas9**

А. А. Князева

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

Натуральные киллеры (далее НК-клетки) — важнейшие компоненты клеточного врожденного иммунитета. Основной их функцией является уничтожение инфицированных вирусами и злокачественно-трансформированных клеток. Данная способность делает НК-клетки перспективным объектом для разработки новых противоопухолевых препаратов.

Важным регулятором цитотоксической активности НК-клеток является цитокин IL-15, связывание с которым запускает в них каскад реакций, направленных на пролиферацию, а также синтез цитотоксических агентов. У мышей белок CIS является важным регулятором противоопухолевого НК-клеточного ответа и в его отсутствие наблюдается более выраженная и продолжительная IL-15 зависимая активация НК-клеток, а также резистентность животных к появлению метастаз. Таким образом, блокада CIS может являться основой для новых средств противоопухолевой терапии.

Целью данной работы является получение человеческих НК-клеточных линий с высоким цитотоксическим потенциалом за счет создания делеции в гене *CISH*(3p21.2), ответственного за продукцию белка CIS.

Для выполнения работы были выбраны две НК-клеточные линии — YT и NK-92. Редактирование генома клеток линий YT и NK-92 осуществлялось с использованием системы CRISPR/Cas9. Используя количественный ПЦР, было отобрано 50 кандидатных клонов линии YT и 15 клонов линии NK-92. Их молекулярный анализ показал, что для всех исследованных моноклонов линии NK-92, в которой, как оказалось, локус *CISH* представлен тремя копиями, остается функциональным как минимум один аллель (отсутствие модификации или небольшие делеции без сдвига рамки считывания), что может указывать на то, что *CISH* является жизненно важным белком для этой линии клеток. Поиск клонов линий YT и NK-92 с нокаутом по гену *CISH* продолжается в настоящее время. Полученные линии будут в дальнейшем проверены на цитотоксичность и усиление противоопухолевой активности. Таким образом, *CISH*-негативные НК-клеточные линии послужат моделью для разработки универсальных противораковых агентов.

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

**Разработка ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1
на основе дисахаридных нуклеозидов в качестве прототипов
лекарственных препаратов для противораковой терапии**

А. О. Комарова

Новосибирский государственный университет,

Институт химической биологии

и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

В настоящее время для лечения рецидивирующих и персистирующих опухолей в клинической практике широко применяются препараты-ингибиторы фермента топоизомеразы 1 (Top1) на основе природного противоопухолевого соединения камптотецина — топотекана и иринотекана. Данные препараты, блокируя Top1, вызывают накопление в клетке ковалентных комплексов Top1 с 3'-концом ДНК, что может приводить к гибели раковой клетки. Такие повреждения *in vivo* удаляются исследуемым нами ферментом репарации ДНК — тирозил-ДНК-фосфодиэстеразой 1 (Tdp1), расщепляющим фосфодиэфирную связь между остатком Top1 и 3'-концом ДНК. Таким образом, Tdp1 препятствует действию ингибиторов Top1 и снижает тем самым эффективность противораковых препаратов. Поэтому поиск ингибиторов Tdp1 представляется перспективным направлением исследований в области поиска лекарственных препаратов, способных усилить терапевтический эффект производных камптотецина при лечении некоторых видов рака и, как следствие, существенно повысить эффективность химиотерапии.

В данной работе был выявлен новый класс ингибиторов фермента Tdp1 на основе природных соединений — дисахаридных нуклеозидов. Был проведен скрининг 49 соединений с использованием флуоресцентного метода в режиме реального времени на двух типах ДНК-субстратов, разработанных в нашей Лаборатории биоорганической химии ферментов. Получены параметры IC_{50} и кинетические параметры ферментативной реакции, а также измерена анизотропия флуоресценции, что позволило определить тип ингибирования для исследуемых соединений.

С помощью МТТ-теста продемонстрирована низкая собственная цитотоксичность выявленных ингибиторов на линиях клеток A549 и WI-38, а также усиление цитотоксического эффекта топотекана на опухолевых клетках, что говорит о перспективности исследуемых соединений для дальнейшей разработки на их основе сенситизаторов к известным противоопухолевым препаратам.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 14-24-00038.

Научные руководители — канд. хим. наук Н. С. Дырхеева,
д-р хим. наук, проф, чл.-корр. РАН О. И. Лаврик

Выявление возбудителей клещевого боррелиоза в клещах, снятых с людей в Новосибирской области

Е. И. Кривошеина, А. И. Кузнецов, М. Ю. Карташов
ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, НСО, р. п. Кольцово,
Новосибирский государственный аграрный университет

Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) относится к облигатно трансмиссивным заболеваниям с природной очаговостью. Заболевание характеризуется преимущественным поражением кожи, нервной системы, сердца, опорно-двигательного аппарата и склонностью к хроническому течению.

Целью данного исследования являлось выявление и генотипирование возбудителей клещевого боррелиоза в клещах, снятых с людей в Новосибирской области.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи: пробоподготовка полученного материала; детекция генетического материала боррелий методом ПЦР; генотипирование выявленных изолятов; анализ полученных данных.

Всего в исследовании было взято 443 клеща, которые были сняты с людей в Новосибирской области в 2015 г. в начале клещевого сезона. Клещи были представлены двумя родами *Ixodes* (274 пробы) и *Dermacentor* (169 проб).

ПЦР-анализом было выявлено наличие генетического материала боррелий в 52 пробах, таким образом, уровень инфицированности клещей составил $11,7 \pm 1,5$ %. Все клещи, в которых выявлены боррелии, принадлежат роду *Ixodes*. При изучении нуклеотидной последовательности было установлено, что 45 ($86,5 \pm 4,7$ %) из них принадлежат *Borrelia garinii*, а 7 ($13,5 \pm 4,7$ %) *Borrelia afzelii*.

Исследование показало, что преимущественно переносчиками боррелий являются клещи рода *Ixodes*, так как в клещах рода *Dermacentor* их обнаружено не было. *Borrelia garinii* встречался в 6,4 раза чаще, чем *Borrelia afzelii*.

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. П. Микрюкова

Разработка методики анализа внеклеточной опухолевой ДНК пациентов с колоректальным раком

А. Е. Кулешова

Новосибирский государственный университет

Колоректальный рак является третьим по распространенности среди онкологических заболеваний. В 2015 году было зарегистрировано 774 тысячи случаев смерти от рака прямой и толстой кишки. Эффективность лечения данного заболевания зависит от его своевременной диагностики, а также индивидуального подбора терапии. В связи с этим становится актуальной разработка методов диагностики заболевания и отслеживания эффективности лечения.

Одним из новых методов является анализ внеклеточной опухолевой ДНК из плазмы крови. Помимо диагностики данный метод может быть использован и для отслеживания эффективности применяемой терапии, поскольку является неинвазивным и дает возможность многократного взятия образцов у пациента.

Однако эта методика в настоящее время не применяется в практической медицине в связи с недостаточностью исследований в данной области. Таким образом, целью настоящего исследования является разработка методики анализа внеклеточной опухолевой ДНК в плазме крови у пациентов с колоректальным раком.

На основе анализа публичных баз данных были выбраны мутации, наиболее часто встречающиеся у пациентов с данным заболеванием. Также были подобраны последовательности праймеров для амплификации ДНК, кодирующей целевые участки генов, в которых чаще всего появляются выбранные нами мутации. Далее была разработана методика приготовления библиотек для дальнейшего секвенирования.

Научный руководитель — канд. биол. наук У. А. Боярских

**Создание кандидатной вакцины против клещевого энцефалита
на основе гибридного рекомбинантного flagG-protE-белка**

Д. А. Кунык

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Флавивирусы способны инфицировать широкий круг организмов, включающих в себя различные виды млекопитающих (в том числе человека), а также насекомых, паукообразных, птиц, рептилий.

Для вакцинации против КЭ широко используют четыре типа инактивированных вакцин, производимых в России (штаммы 205 и Софьин), Австрии (Neudorfl) и Германии (K23). На территории Китая с 1953 г. применяют оригинальную инактивированную вакцину против ВКЭ на основе штамма Zen-Zhang. Фактически только в Австрии удалось установить контроль над заболеваемостью КЭ при помощи вакцинации. В России, в Свердловской области, иммунизировано 86,1 % населения, что позволило также резко снизить заболеваемость КЭ в этом регионе.

Основным иммуногеном, индуцирующим появление вируснейтрализующих антител, является гликопротеин Е вируса клещевого энцефалита. Бактериальный флагеллин — перспективный и эффективный природный адъювант, усиливающий иммунный ответ организма против различных вирусов. Гибридная молекула, несущая основные домены вирусного белка Е и флагеллина G, может стать основой для конструирования кандидатной рекомбинантной вакцины против ВКЭ с усиленной иммуногенностью. Можно предположить, что применение рекомбинантной вакцины приведет к упрощению схемы иммунизации, обеспечит формирование длительного иммунитета, повысит безопасность вакцины и позволит создать новые биотехнологические схемы для разработки кандидатной вакцины, в том числе с использованием клеток растений.

В настоящей работе описано создание гена белка flagG-protE, его экспрессия, очистка белка flagG-protE как основного специфического компонента рекомбинантной вакцины против КЭ, исследование с помощью панели моноклональных антител к гликопротеину Е ВКЭ сохранности основных антигенных детерминант рекомбинантной молекулы. Приведены результаты тестирования сывороток, полученных в эксперименте по иммунизации мышей рекомбинантным белком flagG-protE в сравнении с положительным контролем — вакциной «клещ-Э-ВАК» и белком Е (ВКЭ) без флагеллина. Обсуждается перспективность гибридного белка flagG-protE для возможного использования в качестве кандидатной вакцины против ВКЭ с усиленной иммуногенностью.

Научный руководитель — канд. биол. наук П. А. Белавин

Полногеномный анализ эффектов положения в культивируемых клетках дрозофилы Kc167

М. О. Лебедев

Новосибирский государственной университет,
Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

Чтобы выявить влияние локального окружения хроматина на уровень экспрессии генов у дрозофилы, мы применили метод TRIP (Thousands of Reporters Integrated in Parallel) для культивируемых клеток Kc167. Этот подход основан на одновременной интеграции множества идентичных репортерных конструкций с ДНК-штрихкодом в случайные места генома культивируемых клеток. Как правило, каждая клетка в полученной популяции несет несколько трансгенов, однако анализ всего пула клеток может предоставить информацию о геномном расположении и транскрипционной активности нескольких тысяч репортеров, причем наличие уникальных ДНК-штрихкодов позволяет отслеживать все репортеры одновременно.

В нашей работе, во-первых, мы определили оптимальные условия для трансгеноза культивируемых клеток Kc167 конструкциями на основе транспозона piggyBac. Мы использовали тамоксифен-регулируемую транспозазу piggyBac для минимизации перемещения однажды интегрированных репортеров в другие районы генома. Такие условия гарантируют, что каждый отдельный ДНК-штрихкод будет ассоциирован с уникальным геномным локусом. Во-вторых, мы выбрали несколько конститутивных и индуцируемых промоторов генов дрозофилы и охарактеризовали их эписомальную активность в культивируемых клетках Kc167. В-третьих, мы подготовили набор плазмидных репортерных библиотек на основе транспозона piggyBac, кодирующих зеленый флуоресцентный белок eGFP под контролем выбранных промоторов. Каждая из этих конструкций содержит дополнительную последовательность ДНК («промоторный индекс») рядом со штрихкодом, которая идентифицирует промотор. В-четвертых, используя эквимоллярную смесь плазмидных библиотек, мы создали трансгенные популяции клеток Kc167, каждая из которых содержит около 7000 интегрированных в геном репортеров. Наконец, мы определили геномное местоположение примерно 2000 интегрированных репортеров и измерили их транскрипционную активность, используя высокопроизводительное секвенирование Illumina.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 16-14-10288.

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

Репарация ДНК в интермедиатах транскрипции семейством спираль-два поворота-спираль ДНК-гликозилаз

К. А. Макашева

Новосибирский государственный университет

ДНК-гликозилазы человека NEIL1 и NEIL2 (эукариотические гомологи белков Fpg и Nei *Escherichia coli*) проявляют повышенную активность в удалении окислительных повреждений из «глазков» — двуцепочечных участков, не стабилизированных комплементарными связями. Предполагается, что это может указывать на участие белков NEIL в репарации поврежденных оснований в транскрибируемых и реплицируемых последовательностях ДНК.

Цель работы заключалась в получении транскрипционных элонгационных комплексов с РНК-полимеразой и исследовании активности ДНК-гликозилаз суперсемейства Fpg/Nei в отношении таких интермедиатов и получении изоформ NEIL2b, NEIL2c и их характеристики.

Олигонуклеотидные субстраты содержали поврежденное основание (8-оксогуанин или 5-гидроксиурацил) в различных положениях в «глазках» разного размера (6–30 нуклеотидов) или в D-петлях, образованных с третьей цепью ДНК или РНК. Также были получены тройные открытые комплексы комплексы с РНК-полимеразой *E. coli*.

Как NEIL1, так и NEIL2 активно удаляли повреждения из одноцепочечного участка D-петли с РНК, причем активность NEIL1 была заметно выше активности NEIL2. Для обоих ферментов 5-гидроксиурацил был лучшим субстратом, чем 8-оксогуанин. Было показано влияние размера «глазка» и положения повреждения в нем на активность ферментов. Определены кинетические параметры K_M и k_{cat} реакции, катализируемой ДНК-гликозилазой Fpg *E. coli*.

В присутствии РНК-полимеразы активность ДНК-гликозилазы Fpg *E. coli* снижалась вследствие стерических затруднений, вызванных экранированием субстрата РНК-полимеразой. Показано, что эксцизионная репарация 8-оксогуанина в составе кодирующей цепи ферментом Fpg не подавляет процесс транскрипции.

Полученные результаты показывают, что белки NEIL действительно могут быть задействованы в репарации повреждений в ходе транскрипции, однако для прямого определения возможности этого необходимо исследование активности этих ферментов на интермедиатах транскрипции в комплексе с РНК-полимеразой человека.

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

Направленная регуляция активности малых ядрышковых РНК с применением методов геномного редактирования

А. М. Матвеева

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

Малые ядрышковые РНК (мяоРНК) представляют один из наиболее исследованных классов малых некодирующих РНК (нкРНК). Два класса мяоРНК — C/D-бокс- и H/ACA-бокс РНК — различаются по структурным особенностям и функциям. Они осуществляют посттранскрипционные модификации первичного транскрипта рРНК — 2'-О-метиличивание и псевдоуридилирование соответственно. Нарушения в экспрессии мяоРНК связывают с развитием различных заболеваний человека [1; 2].

Методы генетической инженерии позволяют вносить изменения в биологические системы и обладают огромным потенциалом применения как в фундаментальных исследованиях, так и в медицине и биотехнологии. В настоящее время распространены методы геномного редактирования, обеспечивающие регуляцию экспрессии гена-мишени, включая полный его нокаут. Наиболее популярная система CRISPR/Cas II типа была обнаружена как адаптивный механизм иммунного ответа бактерий.

Целью данной работы являлась разработка стратегии направленного редактирования генов малых ядрышковых РНК.

Для достижения поставленной цели на основе плазмиды рSpCas9(BB)-2A-GFP (PX458) были получены ДНК-конструкции, содержащие компоненты системы CRISPR/Cas9, направленные на внесение одноцепочечных разрывов в участки гена GAS5, кодирующие U75 и U77 мяоРНК. Клетки линии 293FT были трансфицированы полученными ДНК-конструкциями, затем были отобраны GFP-положительные клетки. Далее с помощью секвенирования по Сэнгеру были определены мутации в целевых участках генома. Методом количественной ОТ-ПЦР было выявлено снижение уровня зрелых U75 и U77 мяоРНК-мишеней. Кроме того, наблюдали снижение уровня зрелой нкРНК GAS5, что указывает на взаимную регуляцию созревания мяоРНК и нкРНК гена-хозяина.

Работа проведена в рамках базового проекта ПФНИ ГАН на 2013–2020 гг. (VI.62.1.5, 0309-2018-0003).

1. Yoshida K. et al. EBioMedicine. 2017. Т. 22. Р. 68–77.

2. Филиппова Ю. А. и др. Биохимия. 2017. Т. 82 (11). С. 1557–1576.

Научные руководители — канд. хим. наук Г. А. Степанов,
Ю. А. Филиппова

Получение рекомбинантной фосфолипазы С *Bacillus thuringiensis*

Ю. А. Меркульева

Новосибирский государственный университет,
ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, НСО, р. п. Кольцово,
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

На сегодняшний день описано и охарактеризовано большое количество фосфолипаз — ферментов класса гидролаз, катализирующих расщепление фосфолипидов. Фосфолипаза С (PLC) катализирует гидролиз фосфолипидов на диацилглицериды и полярные фосфатсодержащие группы. Фосфолипазы С различного происхождения нашли широкое применение как в лабораторных исследованиях и медицине, так и в промышленности.

Ценными технологическими свойствами обладают PLC рода *Bacillus*. Ферменты способны гидролизовать широкий спектр фосфолипидов и работать в водных, органических и двухфазных системах, а также обладают высокой удельной активностью и термостабильностью. На данный момент на основе последовательностей фосфолипазы С *B. cereus* и *B. anthracis* созданы рекомбинантные ферменты для промышленного использования. Для поиска новых вариантов PLC интерес представляет *B. thuringiensis*, входящая в таксономическую группу *Bacillus cereus sensu lato*.

Целью данной работы является разработка продуцента термостабильной фосфолипазы С *B. thuringiensis*.

На первом этапе проводили филогенетическую характеристику штаммов *B. thuringiensis* из коллекции ГНЦ ВБ «Вектор» на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов гена 16S рРНК, а также молекулярно-генетический анализ гена фосфолипазы С исследуемых штаммов.

На основе разнообразия транскрибуемых аминокислотных последовательностей были отобраны и клонированы 12 вариантов гена фосфолипазы С. Для получения рекомбинантного белка и скрининга фосфолипазной активности полученных ферментов использовали близкородственную бактерию *B. subtilis*.

Научные руководители — канд. биол. наук, доцент Д. Н. Щербаков,
канд. хим. наук А. А. Бондарь

Конформационная динамика урацил-ДНК-гликозилазы человека SMUG1 в процессе образования фермент-субстратного взаимодействия

И. В. Мисовец

Институт химической биологии и фундаментальной медицины,
г. Новосибирск, Новосибирский государственный университет

Основным источником урацила в ДНК являются процессы дезаминирования цитозина, которые приводят к образованию пар G/U и включения dUMP в процессе репликации ДНК. Репликация ДНК, содержащей урацил, приводит к G/C → A/T мутации. Удаление урацила из ДНК осуществляется рядом монофункциональных урацил-ДНК-гликозилаз, которые инициируют путь эксцизионной репарации оснований. Суперсемейство урацил-ДНК-гликозилаз разделяют на шесть структурных классов. Одноцепочечная селективная монофункциональная урацил-ДНК-гликозилаза человека SMUG1 относится к III классу.

Изначально считалось, что члены данного класса являются высокоселективными по отношению к одноцепочечным ДНК-субстратам, но позже было обнаружено, что они обладают высокой активностью и по отношению к двухцепочечным ДНК-субстратам. Исследования субстратной специфичности выявили, что помимо урацила SMUG1 удаляет 5-гидроксиурацил, 5-гидроксиметилурацил и 5-формилурацил, при этом фермент не проявляет активность в отношении 5-гидроксицитозина, 5-формилцитозина и немодифицированных оснований цитозина и тимина. Такая высокая селективность свидетельствует о высокоэффективном механизме узнавания модифицированных азотистых оснований.

Цель данной работы состояла в регистрации конформационных перестроек фермента и ДНК-субстрата в процессе их взаимодействия в режиме реального времени, определении кинетического механизма взаимодействия и расчета констант скорости отдельных стадий. Конформационные изменения фермента регистрировали по изменению интенсивности флуоресценции остатков Trp. Для регистрации конформационных изменений ДНК использовали модельные ДНК-дуплексы, содержащие флуоресцирующие маркеры. Сравнение кинетических данных, полученных с помощью регистрации флуоресценции остатков Trp фермента, 2-аминопурина и FRET-пары красителей FAM/BNQ1 в ДНК, позволило предложить механизм узнавания поврежденного основания ДНК-гликозилазой SMUG1 и рассчитать значения констант скорости всех стадий, входящих в механизм.

Научный руководитель — канд. хим. наук Н. А. Кузнецов

**Влияние инкапсулированного в биополимерных мицеллах
доксорибуцина на жизнеспособность и морфологию
эритроцитов человека в кратковременной культуре *in vitro***

В. И. Нихаенко

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Инкапсуляция лекарственных препаратов позволяет значительно снизить общую системную токсичность и повысить их таргетную эффективность. Доксорибуцин, антрациклиновый антибиотик, широко используется в терапии различных типов злокачественных новообразований. Его выраженные побочные эффекты связаны со свободнорадикальным повреждением клеточных мембран.

В представленной работе изучали возможность снижения оксидантной активности доксорибуцина путем инкапсуляции антибиотика в наноразмерных мицеллах из биodeградируемого биополимера.

Было показано, что доксорибуцин в изученных концентрациях индуцирует трансформацию эритроцитов в различные аномальные фенотипы. Трансформирующая активность имела дозозависимый характер: численность аномальных фенотипов достигала 70 % при инкубации с максимальной концентрацией доксорибуцина (0,3 мг/мл). Для всех изученных концентраций антибиотика среди аномальных фенотипов доминировали эхиноциты. Увеличение численности аномальных форм эритроцитов сопровождалось резким возрастанием активности восстановления МТТ (как показатель окислительного стресса — в 2,6 раза по сравнению с контрольным вариантом) и снижением осмотической резистентности клеток. Инкапсуляция доксорибуцина в биополимерных мицеллах приводила к значительному уменьшению аномальных форм эритроцитов, снижению активности восстановления МТТ и повышению осмотической резистентности клеток.

«Пустые» биополимерные частицы не вызывали достоверных изменений в кратковременной культуре по сравнению с вариантом культивирования на среде с фосфатным буфером.

Полученные результаты позволяют заключить, что инкапсуляция доксорибуцина в биополимерных мицеллах позволяет значительно снизить токсичность антибиотика в кратковременной культуре эритроцитов.

Научный руководитель — проф. биол. наук Е. И. Шишацкая

Эффекты растительных фенолов в кратковременной культуре эритроцитов человека

А. В. Попкова

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Фенолы – продукты вторичного метаболизма растений. Структурные особенности многих растительных фенолов определяют их высокую антиоксидантную активность. В связи с этим растительные фенолы получили широкое распространение как биологически активные добавки, положительно влияющие на антиоксидантный потенциал человека. Однако в культурах *in vitro* показаны неблагоприятные мембранотропные эффекты некоторых растительных фенолов. Это определяет необходимость изучения биологических эффектов растительных фенолов в клеточных культурах *in vitro* и прогнозирования их активности *in vivo*.

В работе нами было изучено влияние фенолов черники *Vaccinium myrtillus* на жизнеспособность клеток и процессы трансформации эритроцитов в аномальные фенотипы в кратковременной культуре *in vitro*.

Было показано, что в присутствии растительных фенолов значительно уменьшалось количество аномальных морфологических фенотипов эритроцитов. Можно полагать, что фенолы стабилизировали клеточную мембрану и ингибировали трансформацию двояковогнутых дискоцитов в аномальные формы. Стабилизирующие мембранотропные эффекты фенолов характеризовались дозовой зависимостью, причем в варианте с самой высокой концентрацией фенолов (50 у.е.) наблюдалось снижение активности восстановления МТТ в формазан. Это позволяет предположить, что стабилизация мембран эритроцитов в присутствии фенолов связана с антиоксидантной активностью фенолов.

Для оценки эффективности фенолов как антиоксидантов в культуральную среду вносили индуктор окислительного стресса, 10^{-4} М CuSO_4 , и различные концентрации фенолов. Было показано, что в присутствии 10^{-4} М CuSO_4 (без фенолов) активность восстановления МТТ в формазан снижалась в 10 раз, что свидетельствовало о гибели клеток. При одновременном внесении в среду 10^{-4} М CuSO_4 и фенолов в различных концентрациях жизнеспособность клеток не отличалась от контрольного варианта.

На основании полученных результатов можно заключить, что в исследованных концентрациях водорастворимые фенолы черники *Vaccinium myrtillus* в кратковременной культуре *in vitro*: 1) стабилизируют мембраны эритроцитов, препятствуя трансформации в аномальные морфологические фенотипы; 2) повышают жизнеспособность клеток в условиях окислительного стресса.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Е. И. Шишацкая

***N*-(сульфонил)-фосфорамидные олигонуклеотиды
как потенциальные антисмысловые терапевтические агенты,
способные активировать РНКазу Н**

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

Аналоги ДНК, модифицированные по межнуклеотидной фосфатной группе, рассматриваются в настоящее время как перспективные антисмысловые терапевтические препараты для лечения генетических болезней, вирусных или бактериальных инфекций. Нами были впервые получены олигонуклеотиды, в которых фосфодиэфирные группы полностью замещены *N*-(сульфонил)-фосфорамидными группами, такими как тозилфосфорамидные или мезилфосфорамидные [1; 2]. Было выявлено, что некоторые из полученных *N*-(сульфонил)-фосфорамидных олигодезоксирибонуклеотидов способны активировать гидролиз комплементарной РНК с помощью РНКазы Н в зависимости от структуры: природный олигонуклеотид $\geq$ мезилфосфорамидный олигонуклеотид $>$ *N*-(1-гексансульфонил)-фосфорамидный олигонуклеотид $\gg$ *N*-(1-бутансульфонил)-фосфорамидный олигонуклеотид.

Таким образом, нами было показано, что олигодезоксирибонуклеотиды, содержащие мезилфосфорамидные группы во всех межнуклеотидных положениях, образуют прочные комплементарные комплексы как с ДНК, так и с РНК, обладают высокой устойчивостью к ферментативному гидролизу и способны наиболее эффективно активировать РНКазу Н. Это позволяет рассматривать данные аналоги ДНК как перспективную основу для создания антисмысловых терапевтических препаратов.

1. Прохорова Д. В., Челобанов Б. П., Буракова Е. А., Фокина А. А., Стеценко Д. А. // Биоорганич. хим. 2017. Т. 43. № 1. С. 45–50.

2. Челобанов Б. П., Буракова Е. А., Прохорова Д. В., Фокина А. А., Стеценко Д. А. // Биоорганич. хим. 2017. Т. 43. № 6. С. 644–649.

Научный руководитель — канд. хим. наук Д. А. Стеценко

Экзосомы молока: выделение, белки и нуклеиновые кислоты

Л. В. Пурвиныш

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

В последнее время особый научный интерес вызывают экзосомы — везикулярные структуры размером 40–100 нм, обнаруженные во всех биологических жидкостях организма. Было показано, что экзосомы вовлечены во многие физиологические и патологические процессы в организме, а также обнаружено, что в них имеются белки, пептиды, ДНК и разных видов РНК. Изучение экзосом из молока имеет большое значение в перспективе разработки новых подходов препаративного выделения экзосом из сложных биологических жидкостей, содержащих большое количество белков. Кроме того, изучение экзосом молока и их компонентов позволит получить новую информацию о влиянии молока на рост и развитие пищеварительной и иммунной систем ребенка.

Нами был разработан подход, который сочетает стандартные протоколы выделения экзосом с дополнительной гель-фильтрацией. По данным просвечивающей электронной микроскопии, такая методика позволяет получить гомогенные препараты везикул. Иммуноцитохимическим окрашиванием с использованием антител к тетраспанинам — основным поверхностным белкам экзосом — было подтверждено, что полученные везикулы являются экзосомами. Кроме того, аналогичные антитела были использованы для создания колонок для аффинного выделения экзосом.

Анализ белкового состава в высокоочищенных препаратах экзосом молока показал наличие незначительного числа белков, что указывает на то, что некоторые молочные белки, которые ранее были описаны как экзосомальные, не входят в состав экзосом, а выделяются вместе с ними.

В процессе анализа нуклеиновых кислот экзосом было проведено выделение РНК из образцов, отобранных на разных стадиях выделения экзосом с последующей обратной транскрипцией и ПЦР в режиме реального времени с использованием праймеров к нескольким основным микроРНК экзосом молока.

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

Горизонтальный перенос транспозонов между геномами лучеперых рыб

А. Е. Сарачаков, Д. Ю. Прокопов

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

Более половины современных видов позвоночных относятся к лучеперым рыбам. Представители этой группы населяют разные экологические ниши и демонстрируют уникальные особенности морфологии и эволюции. Согласно данным филогенетики, современные лучеперые состоят из четырех крупных клад: Cladistia (многоперообразные), хрящевые ганоиды (осетрообразные), костные ганоиды и костистые рыбы. С точки зрения сравнительной геномики наиболее полно исследованы представители самого крупного таксона — костистых рыб, и один вид костных ганоидов, тогда как геномы двух других клад остаются малоизученными.

Выполненные в ИМКБ СО РАН секвенирование и сборка генома представителя осетрообразных стерляди (*Acipenser ruthenus*) показали, что, как и у большинства других эукариот, существенную часть генома данного вида составляют мобильные генетические элементы (МГЭ). У осетровых было выявлено большое разнообразие МГЭ, а последовательности некоторых из них оказались сильно похожими на транспозоны других позвоночных. Мы провели анализ повторенных элементов в геноме стерляди и локализацию некоторых выявленных МГЭ на хромосомах стерляди и калабарского каламоихта (*Erpetoichthys calabaricus*). По нашим оценкам, общее содержание транспозонов в геноме стерляди составляет около 21 %, а тремя самыми распространенными типами элементов являются LTR, LINE и ДНК-транспозоны. Дивергенция между повторами внутри групп составила менее 10 %.

Мы обнаружили четыре МГЭ, показавших высокую гомологию (85–99 %) с повторами костистых рыб, а также представителей более отдаленных таксонов, что предполагает горизонтальный перенос. В результате локализации рассеянных элементов на метафазных хромосомах стерляди и каламоихта показано, что элементы SINE, ДНК-транспозоны TE1 и транспозоны семейства Mariner равномерно распределены по всему геному, а LINE сосредоточены в прицентромерных районах.

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

Использование MLPA-технологии для анализа мутаций, ассоциированных с болезнью Паркинсона

Е. А. Серова, П. А. Николаева

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний. На сегодняшний день известно, что в развитии БП участвует несколько генов. Компанией MRC-Holland были разработаны наборы реагентов SALSA MLPA P051 и SALSA MLPA P052 для проведения MLPA-анализа и обнаружения мутаций в ряде генов, ассоциированных с БП. Именно при помощи MLPA-анализа можно получить информацию о наиболее полном спектре всех мутаций, ассоциированных с развитием БП. MLPA-технология разработана преимущественно для обнаружения мутаций типа CNV (copy number variation). Но наборы реагентов P051 и P052 также позволяют выявить две наиболее значимые точечные мутации — SNCA (A30P) и LRRK2 (G2019S).

Целью настоящего исследования стало освоение и использование MLPA-технологии в оценке риска развития БП.

Метод представляет собой разновидность мультиплексной ПЦР, в результате которой амплифицируется несколько различных участков ДНК только с одной парой праймеров. Преимущество метода в том, что одновременно возможно проводить анализ нескольких участков ДНК (до 50 зондов). Метод MLPA-анализа используется для определения изменения числа копий гена (CNV), относительного количества мРНК, известных точечных мутаций и SNP. В ходе освоения методики был проведен анализ трем пациентам с диагнозом БП. Все пациенты обследовались на наличие мутаций в следующих генах: *SNCA*, (в том числе A30P), *PARK2*, *UCHL1*, *PINK1*, *PARK7*, *LRRK2* (в том числе G2019S), *GCHI* и *ATP13A2* (2, 9, 12, 27 экзоны).

Результатом явилось освоение методики MLPA-анализа. Ни у одного из трех пациентов мутаций в вышеперечисленных генах не обнаружено. В дальнейшем планируется провести обследование 30 пациентам с БП, а также определить распространенность мутаций в Красноярском крае.

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. Н. Субботина

Конструирование онколитических векторов на основе аденовируса серотипа 6

М. А. Сизова

Новосибирский государственный университет

Существует необходимость поиска эффективных методов лечения людей с онкозаболеваниями. Среди новых методов, таких как Т-клеточная терапия, ингибиторы чек-пойнтов, особое место занимает вирусная иммунотерапия.

При разрушении опухолевой клетки вирусом происходит высвобождение факторов, приводящих к активации клеток иммунной системы и развитию системного противоопухолевого иммунного ответа.

Работа посвящена получению модифицированных аденовирусов серотипа 6 (Ad6), которые могут служить основой для противоопухолевого препарата. В клинических испытаниях препараты на основе аденовирусов показывают свою безопасность и эффективность, однако они сконструированы на основе Ad5, который обладает рядом недостатков (гепатотоксичность, предсуществующий иммунитет). Ad6 лишен их.

Для усиления специфичности Ad6 к опухоли в его геном было решено ввести опухолево-специфический промотор гена теломеразы человека (hTERT), для усиления эффективности — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ).

Для получения рекомбинантного вируса была сконструирована шаттл-плазмида pBRAd-hTERT-GMCSF, несущая необходимые встройки: начало генома Ad6 со встройкой hTERT на месте родного промотора аденовируса гена *E1A*, фрагмент генома Ad6, необходимого в качестве плеча для рекомбинации *in vivo*, ген ГМ-КСФ с цитомегаловирусным промотором и конец генома аденовируса.

Ранее в нашей лаборатории была получена полногеномная плазмида pAd6-hTERT. В ходе данной работы модифицированный геном вируса вырезали из плазмиды и проводили трансфекцию клеток Ad293. Было показано, что копия генома из pAd6-hTERT способна реплицироваться и вызывать цитопатическое действие. Произвели наработку Ad-hTERT и очистку вируса в градиенте плотностей CsCl. Провели измерение титра полученной вирусной суспензии, он составил $10^{11,55}$ ТЦПД50/мл.

Научный руководитель — канд. биол. наук М. В. Романенко

**Белки и белковые комплексы плаценты человека
с цитотоксической активностью**

С. С. Скрипкин, Е. Е. Буркова
Новосибирский государственный университет,
Институт химической биологии
и фундаментальной биологии СО РАН, г. Новосибирск

Плацента контролирует нормальное развитие плода. Она выполняет регуляцию обмена веществ, газообмена, синтеза различных соединений, осуществляющих гуморальную регуляцию процессов, важных для нормального течения беременности и подготовки организма матери к родам. Многие биологические процессы в плаценте выполняются не только индивидуальными белками, но и белковыми комплексами. Идентификация и характеристика белков и белковых комплексов позволит глубже понять некоторые механизмы функционирования плаценты.

Целью работы является изучение структуры и функций белков и белковых комплексов плаценты человека различными методами.

Экстракты плацент здоровых женщин, полученных после нормальных физиологических родов, наносили на колонку с сорбентом Sepharose 4В. При разделении белков гель-фильтрацией наблюдали два белковых пика.

Для оценки влияния белков на пролиферацию клеток был использован МТТ-тест. Установлено, что некоторые фракции второго пика гель-фильтрации плаценты человека являются цитотоксичными как для раковых, так и для нормальных клеток.

Проточной цитофлюорометрией с Annexin V и пропидий йодидом было обнаружено, что при инкубация клеток в присутствии цитотоксически активных белковых фракций плаценты человека индуцирует гибель клеток по механизму апоптоза.

Методом электрофореза белков в градиентном полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия показано, что в составе цитотоксичных фракций в большем количестве представлены белки с молекулярными массами в 14,8, 24,8, 51,2 и 64,7 кДа, в меньшем — 33,1, 44 и 179,4 кДа.

В дальнейшем будет проведена идентификация белков цитотоксически активных фракций с помощью двумерного электрофореза, иммуноблоттинга и MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Работа поддержана проектом № VI.62.1.5. Программы ФНИ СО РАН VI.62.1 (0309-2018-0003) и грантом РФФИ № 16-04-00609.

Научный руководитель — д-р хим. наук, проф. Г. А. Невинский

Эфирное масло *Schizonepeta multifida* (Республика Хакасия)

З. О. Ставицкая

Томский государственный университет

Schizonepeta multifida (L.) Briq. (Lamiaceae) — многолетнее травянистое растение, произрастающее на юге Сибири, Дальнем Востоке, в Средней Азии, Якутии, Монголии. *S. multifida* используется в традиционной медицине Тибета, Китая, Монголии. Травя и цветки применяются в комплексной терапии в качестве болеутоляющего, антисептического, ранозаживляющего и противоопухолевого средства.

Основные биологически активные вещества *S. multifida* — эфирные масла (ЭМ). Количественный и качественный состав ЭМ *S. multifida* изучены фрагментарно. Нами исследован состав ЭМ *S. multifida* из двух местообитаний в Ширинском р-не Респ. Хакасия: окр. с. Ефремкино, разнотравно-злаковая степь (2016 г.); окр. п. Марчелгаш, остепненный луг (2017 г.). Образцы ЭМ получили перегонкой с водяным паром из высушенной надземной массы в аппарате Гинзберга. Содержание ЭМ в образце 2016 г. составляет 0,83 %, в образце 2017 г. — 0,74 %. Идентификация летучих компонентов пробы проводилась методом газовой хромато-масс-спектрометрии на приборе Shimadzu QP 2020, № O21425470068US. В образце 2016 г. ключевыми соединениями являются цинеол, оцимен, терпинеол, цис-карвеол, пулегон, карвон; в образце 2017 г. — цинеол, лимонен, оцимен, трансментон, изомеры карвона, пулегон.

Несмотря на небольшое расстояние между местами сбора сырья, состав образцов ЭМ *S. multifida* существенно различается. Известно, что популяции одного вида могут отличаться по составу и количеству веществ, накапливаемых в растениях, т. е. представлять собой разные хеоморфы. Поэтому изучение состава ЭМ растений из разных местообитаний, а также исследование экологических факторов важно для решения вопросов стандартизации сырья и выявления оптимальных мест для заготовок.

Научный руководитель — канд. биол. наук М. Н. Шурупова

**Закономерности развития карциносаркомы
при естественном ее течении
и при действии препарата «Метформин» в качестве геропротектора**

А. С. Худонцова

Новосибирский государственный аграрный университет

Злокачественные опухоли, такие как карциносаркома, характеризуются большим количеством побочных эффектов, возникающих при их росте. Так, продолжительность жизни зараженных карциносаркомой крыс не превышает полутора месяцев. При данном обстоятельстве особенно интересно было исследовать влияние современных геропротекторов на новообразование, поскольку улучшение качества жизни человека и животных при проявлении болезни является важной проблемой современной медицины.

Целью данной работы являлось выявление анатомо-морфологических закономерностей развития карциносаркомы при ее естественном развитии и при действии антидиабетического бигуанида «Метформин».

Объектами исследования служили крысы линии Wistar, кормящие самки в возрасте трех месяцев, массой 150–200 г. Всего в данном исследовании было задействовано 28 крыс, 24 из которых исследовали на естественное течение карциносаркомы, четверых — на течение при действии препарата «Метформин».

Суспензию опухолевых клеток вводили шприцом в бедренную мышцу грызунов. Доза суспензии была выбрана в соответствии с литературными данными — 10^6 клеток на животное.

Нами были произведены гистологическое, цитологическое и гематологическое исследования крыс. Проанализировав полученные результаты, мы пришли к следующему выводу: так как метформин относится к числу активаторов аденозинмонофосфат-киназы (АМРК), то при действии метформина в период перехода из карциномы в саркому увеличивается активность p53, который стимулирует «киллерные» рецепторы. Клеточный цикл останавливается в фазе цикла G_1 благодаря активации гена p21, продукт которого ингибирует комплексы циклин-Cdk, в результате чего часть клеток подвергается разрушению. Это не мешает опухоли расти, но влияет на степень ее злокачественности и, соответственно, увеличивает восприимчивость новообразования к химиотерапии и улучшает прогноз.

Научный руководитель — д-р ветеринар. наук, проф. Г. А. Ноздрин

Влияние умеренной гипотермии разной длительности на биохимический состав плазмы крови

Ш. И. Чалабов, З. М. Шихамирова

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

В последнее время гипотермия часто применяется для коррекции и лечения различных заболеваний животных и человека. Основным эффектом гипотермии является снижение интенсивности обмена веществ, что позволяет предупреждать гипоксию или риск ее возникновения. Однако наряду с положительными эффектами гипотермия в зависимости от глубины и длительности может вызывать ряд нежелательных изменений. В данной работе нами исследована зависимость биохимического состава плазмы крови от длительности умеренной гипотермии.

Работы выполнены на самцах крыс. Общую температуру тела крыс снижали до 30 °С в течение 30 мин, а затем пролонгировали это состояние в течение трех часов. В плазме крови измеряли содержание общего белка, мочевины, глюкозы, триацилглицеролов (ТАГ) и холестерина.

После кратковременной и пролонгированной гипотермии уровень белка в плазме крови снижается на 9,1 % и 16,7 % соответственно. Сразу после снижения температуры тела уровень мочевины снижается на 15,6 %, а после пролонгированной гипотермии возрастает на 24,8 %. Изменение уровня общих белков в динамике гипотермии отрицательно коррелирует с изменением содержания мочевины. Это означает, что снижение уровня белков после пролонгированной гипотермии связано усиленным их протеолиза с последующим образованием мочевины.

При кратковременной гипотермии уровень глюкозы в плазме возрастает на 38,3 %, а после пролонгирования гипотермии ее содержание снижается до уровня контроля, что, видимо, связано с ее усиленной утилизацией тканями.

Содержание ТАГ при гипотермии возрастает на 28 %, а уровень холестерина повышается на 23,5 %. При пролонгированной гипотермии уровень ТАГ и холестерина снижается до нормальных значений.

Таким образом, биохимический состав плазмы крови зависит от длительности умеренной гипотермии.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Н. К. Кличханов

Панель сенсорных линий на основе широко нейтрализующего антитела 10E8

Д. С. Черникова

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

Одним из самых перспективных направлений в разработке вакцины против ВИЧ-инфекции является создание иммуногена, способного индуцировать аффинное созревание широко нейтрализующих антител (bnAb). Для поиска иммуногенов и оценки эффективности активации ими В-клеток, несущих на своей поверхности незрелую форму bnAb, необходимо создание тест-системы, максимально приближенной к человеку. Такой клеточной моделью может служить линия-сенсор с поверхностной экспрессией зародышевой формы bnAb в виде В-клеточных рецепторов.

Целью данной работы являлось создание трех функциональных стабильных сенсорных линии с поверхностной экспрессией gl10E8 — зародышевой версии антитела 10E8 и двух промежуточных вариантов — i110E8 и i210E8. Выбор данного антитела обусловлен тем, что оно характеризуется высоким нейтрализующим потенциалом, достигающим 97–99 %, что является одним из лучших показателей среди всех bnAb.

В ходе данной работы путем молекулярного клонирования были созданы лентивирусные конструкции, кодирующие сенсоры на основе gl10E8, i₁10E8 и i₂10E8. Для трансдукции в качестве целевой клеточной линии мы использовали линию В-клеточной лимфомы человека DG-75. С помощью метода Ca-flux было показано, что полученные сенсорные линии DG-75(gl10E8), DG-75(i₁10E8), DG-75(i₂10E8) функциональны. Данная сенсорная платформа используется для тестирования невирусных иммуногенов, направленных против зародышевой формы и ранних форм созревания антитела 10E8.

В связи с тем, что широко нейтрализующее антитело 10E8 характеризуется высоким уровнем соматического гипермутагенеза в ходе аффинного созревания, мы работаем над созданием целой серии сенсорных линий, имитирующих промежуточные стадии созревания антитела 10E8, что позволит проводить тестирование иммуногенов, направляющих развитие В-клеточного ответа в сторону зрелой формы 10E8.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-04-00915).

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

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

УДК 577.25

Влияние хлорида лития на экспрессию серотонинергических 1A рецепторов в мозге

К. А. Айриянц

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск,
Новосибирский государственный университет

Изменение серотонинергической (5-НТ) активности в мозге полагают важным механизмом как патогенеза, так и терапии депрессии. В последнее время для солей лития выявлена способность ослаблять симптомы депрессии, однако пути их антидепрессивного влияния остаются неясными. С целью прояснения этого вопроса в данной работе на взрослых самцах крыс было проведено сравнительное исследование влияния хлорида лития, введенного в течение двух или семи дней и оказывающего в этом режиме умеренное антидепрессивное действие, на экспрессию ключевого регулятора 5-НТ активности — 5-НТ1-ауторецепторов в областях локализации клеточных тел 5-НТ-нейронов.

С использованием флуоресцентной иммуногистохимии после введения препарата в дорзальном и вентральном отделах дорсального ядра шва обнаружено достоверное снижение экспрессии 5-НТ1A-рецепторов. Поскольку понижение количества 5-НТ1A-ауторецепторов традиционно связывают с антидепрессивными эффектами, полученные результаты указывают на возможное включение этого пути в механизм антидепрессивного действия хлорида лития.

Работа поддержана грантом № 0324-2018-0043 Программы Президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

Научный руководитель — д-р биол. наук Г. Т. Шишкина

Влияние ожирения на сигналинг FGF21 и экспрессию генов в буром жире у мышей зависит от пола

Н. Ю. Балыбина

Новосибирский государственный университет

Ожирение — расстройство, возникающее в результате дисбаланса между поступлением и расходом энергии. В то время как поступление энергии зависит от потребления пищи, расход энергии зависит от многих факторов, одним из которых является термогенез в бурой жировой ткани. Поэтому одним из потенциально возможных способов избавиться от лишнего веса является повышение термогенной активности бурого жира. Известно, что в буром жире фактор роста фибробластов 21 (FGF21) активирует термогенез и повышает экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию термогенеза и углеводно-жирового обмена. Однако до сих пор не изучены половые различия в изменении уровня FGF21 в крови и его экспрессии в буром жире при ожирении.

Цель работы — исследовать влияние ожирения на уровень гормонов и метаболитов в крови, а также на экспрессию генов бурого жира, участвующих в регуляции термогенеза и углеводно-жирового обмена, у особей разного пола. Было показано, что при ожирении только у самцов повышался индекс бурого жира (отношение массы органа к массе тела, %). У самцов в большей степени, чем у самок повышался уровень в FGF21 крови и экспрессия его гена в буром жире. В то же время у самцов, в отличие от самок, снижался уровень экспрессии генов, участвующих в передаче сигнала FGF21 (рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (*PPAR γ*) и ко-рецептор FGF21 (*KLB*)) и генов, экспрессию которых стимулирует FGF21 (карнитин пальмил-трансфераза 1 (*CPT1*), транспортер глюкозы 1 (*Slc2a1*) и транспортер глюкозы 4 (*Slc2a4*)). Подавление экспрессии генов, вовлеченных в окисление жирных кислот (*CPT1*) и в поступление глюкозы (*Slc2a1* и *Slc2a4*) у ожиревших самцов, возможно, способствует избыточному накоплению у них бурого жира.

Таким образом, при ожирении у самцов более выраженное, чем у самок, повышение уровня FGF21 в крови и его экспрессии в буром жире, что ассоциировалось с развитием резистентности к его действию на уровне экспрессии генов и с повышением индекса бурого жира.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Н. М. Бажан

Экспрессия генов серотониновой системы взрослых животных после неонатального введения глюкокортикоидов и действия стресса

К. В. Балык

Новосибирский государственный университет

Серотониновая система мозга вовлечена в проявление депрессивных состояний, склонность к которым многократно возрастает в результате неблагоприятных стрессорных условий протекания раннего онтогенеза. Повышение уровня гормонов стресса, глюкокортикоидов при таких слабых воздействиях, как разлучение с матерью или ухудшение степени материнской заботы в первые дни жизни, способно нарушить функционирование серотониновой системы и привести к развитию аффективных расстройств. Исследование уровней экспрессии генов серотониновой системы в отделах мозга взрослых животных с помощью ПЦР в реальном времени после введения им на третий день жизни дексаметазона (0,2 мг/кг) или гидрокортизона (5 мг/кг), а также действия хронического или острого стресса явилось целью работы. Неонатальное введение глюкокортикоидных гормонов привело к долговременному изменению активности серотониновой системы — понижению экспрессии гена ключевого фермента синтеза медиатора — нейрональной триптофангидроксилазы (*tph2*) в среднем мозге. Это снижение экспрессии гена *tph2* у животных с неонатальным введением гормонов сохранялось на фоне хронического умеренного стресса, повышающего уровень мРНК гена фермента, а также при действии острого стрессорного воздействия, снижающего количество транскриптов гена *tph2* по сравнению с контрольными группами. Уровень экспрессии гена серотонинового транспортера (*Sc16a4*) достоверно коррелировал с уровнем мРНК гена *tph2* на протяжении всех экспериментальных процедур. Экспрессия гена основного ауторецептора серотониновой системы — *5ht1A* не зависела от неонатальных гормональных воздействий, но оказалась чувствительна к действию кратковременного стресса вынужденного плавания, повышаясь в среднем мозге и префронтальной коре у всех групп животных.

В работе впервые установлено долговременное изменение экспрессии генов серотониновой системы мозга взрослых животных после однократного введения глюкокортикоидов в чувствительный период раннего онтогенеза.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01222.

Научный руководитель — д-р биол. наук, доцент Т. С. Калинина

Анализ изменений нейрогенеза в гиппокампе крыс OXYS при развитии признаков болезни Альцгеймера

А. О. Бурняшева

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

В связи с увеличением продолжительности жизни населения развитых и развивающихся стран растёт количество людей, страдающих болезнью Альцгеймера (БА). Патогенез этого заболевания тесно связан с нарушениями нейрогенеза — ключевого механизма регуляции пластичности зрелого мозга. Для оценки вклада изменений нейрогенеза в развитие признаков БА мы использовали крыс OXYS — модель спорадической формы БА.

Работа выполнена на крысах-самцах линий OXYS и Вистар (контроль) в возрасте 3 и 18 мес. Плотность нейробластов I и II типа и содержание β -амилоида (A β) в зубчатой извилине (ЗИ) гиппокампа оценивали методом иммуногистохимии. Для оценки способности к обучению и переобучению использовали водный тест Морриса.

Анализ результатов показал, что у крыс OXYS в возрасте трех месяцев способность к обучению снижена: латентный период нахождения скрытой под водой платформы не изменялся в течение первых пяти дней тестирования, тогда как крысы Вистар уже на второй день обучения научались находить платформу. На следующий день после перемещения платформы в противоположный сектор бассейна крысы Вистар демонстрировали значительное сокращение времени ее нахождения, что свидетельствует об их успешном переобучении. У крыс OXYS этот показатель значимо не изменялся, что указывает на нарушение их способности к переобучению.

Полученные данные могут отражать изменения нейрональной пластичности гиппокампа крыс OXYS. Мы показали, что в три месяца в ЗИ крыс OXYS была снижена плотность нейробластов I типа. С возрастом плотность нейробластов I и II типа значительно снижалась у крыс обеих линий. В 18 мес. плотность нейробластов II типа была повышена в ЗИ крыс OXYS на фоне значительного повышения содержания A β .

Таким образом, манифестация признаков БА у крыс OXYS по времени совпадает со снижением когнитивных функций и процессов нейрогенеза. С возрастом эти нарушения прогрессируют на фоне значительного увеличения в ЗИ гиппокампа крыс OXYS содержания A β .

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

**Влияние лептина на экспрессию генов в плацентах,
мозге и печени плодов разного пола у мышей в конце беременности**

Е. И. Денисова

Новосибирский государственный университет

На лабораторных грызунах показано, что гормон жировой ткани лептин в период беременности оказывает зависящее от пола влияние на развитие потомства. Механизмы гендер-специфического программирующего действия материнского лептина не изучены. Возможно, лептин влияет на функцию плацент и (или) непосредственно на развивающийся плод.

Цель — изучить влияние введения лептина на поздних сроках беременности на экспрессию генов ростовых факторов *Igf1*, *Igf2*, *Igf2R*, транспортеров аминокислот *Snat1*, *Snat2* и *Snat4* и глюкозы *Glut1* и *Glut3* в плацентах, на экспрессию генов, регулирующих расход энергии (*MKP-4*, *NPY*, *ПОМК*, *AgRP*) в мозге, и генов *Igf1*, *Igf2*, *Igf2R* в печени плодов разного пола у мышей.

Мышам линии C57Bl на 17 день беременности вводили лептин (4 мг/кг), либо физиологический раствор. Спустя три часа или семь часов после введения проводили оценку экспрессии генов в тканях методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Введение лептина снижало вес плодов через семь часов после введения и оказывало зависящее от пола влияние на экспрессию генов. Через три часа после введения у плодов женского пола экспрессия гена *Igf2* в плаценте снизилась, гена *MKP-4* в мозге — повысилась. Через семь часов после введения экспрессия гена *Igf2R* в печени плодов женского пола увеличилась, экспрессия гена *AgRP* в мозге плодов мужского пола снизилась, экспрессия гена *MKP4* была повышенной у плодов обоего пола.

Результаты показывают, что лептин тормозит рост плодов. Лептин может подавлять рост плодов женского пола через влияние на экспрессию факторов роста в плаценте и в печени плодов. Материнский лептин может оказывать гендер-специфическое отсроченное влияние на метаболический фенотип потомства через неодинаковое воздействие на становление систем, регулирующих энергетический баланс, у плодов мужского и женского пола.

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

**Эффекты введения субанестетической дозы кетамина
на экспрессию белка c-Fos в пирамидных нейронах префронтальной
коры у крыс в условиях острого стресса**

У. С. Дрозд

Новосибирский государственный университет

Депрессия — широко распространенное и гетерогенное заболевание с тяжёлыми для здоровья и экономики последствиями. Несмотря на годы изучения и попытки разработать эффективные методы лечения, доступные в настоящий момент антидепрессанты имеют серьезные ограничения. В первую очередь — задержку в несколько недель до достижения терапевтического эффекта. Последние клинические исследования показали, что кетамин, неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов, вызывает быстрое антидепрессантное действие и эффективен даже у пациентов, устойчивых к классическим антидепрессантам. Цель данного исследования — установить влияние однократного введения субанестетической дозы кетамина на экспрессию белка c-Fos, маркера активности нейронов, в префронтальной коре (PFC) крыс, так как известно, что данная область мозга участвует в регуляции психоэмоциональных состояний организма. Для этого взрослым самцам крыс линии Wistar внутрибрюшинно вводили кетамин в дозе 15 мг/кг веса тела, а контрольной группе — эквивалентный объем физиологического раствора. Час спустя половину животных из каждой группы стрессировали в условиях подвешивания за хвост, еще через два часа выделяли головной мозг. Для оценки количества пирамидных нейронов в PFC, экспрессирующих c-Fos, проводилось иммуногистохимическое окрашивание срезов мозга по этому белку, а также маркеру пирамидных нейронов верхних слоев коры больших полушарий — Satb2, после чего подсчитывалось количество соэкспрессирующих эти белки нейронов, а также общее количество c-Fos-положительных нейронов. В результате было обнаружено, что кетамин увеличивал общее число нейронов PFC, экспрессирующих c-Fos, на одинаковом уровне, как при воздействии стрессом, так и в несрессовых условиях, по сравнению с контрольной группой, которая не подвергалась стрессу. При этом в контрольной группе, подвергнутой стрессу, наблюдалось такое же увеличение количества c-Fos-позитивных клеток, как и в кетаминовой группе. Значимых различий в количестве нейронов, соэкспрессирующих c-Fos и Satb2, не было обнаружено. Таким образом, кетамин вызывает увеличение активности нейронов PFC, аналогично воздействию острым стрессом, причем в этот ответ вовлекаются как пирамидные, так и непиримидные нейроны.

Работа поддержана грантом РНФ № 14-15-00115П.

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

Изучение дофаминергической системы в мозге крыс с генетически детерминированным агрессивным поведением или его отсутствием

Д. В. Еремин

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Одной из множества нейротрансмиттерных систем мозга, вовлеченных в регуляцию агрессивного поведения, является дофаминергическая (ДА) система. Однако на сегодняшний день сведений об ее участии все еще не достаточно. Также обращает на себя внимание факт отсутствия работ, выполненных на генетических моделях агрессии. Одной из таких моделей является линия крыс, селекционированных на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии, вызванной страхом по отношению к человеку.

Целью данной работы было измерение уровня экспрессии мРНК ключевых генов ДА системы, а также уровней ДА и диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) в различных структурах мозга высокоагрессивных и ручных крыс. Экспрессию генов, кодирующих тирозин гидроксилазу (*Th*), ДА транспортер (*Slc6a3*), ДА рецепторы 1 и 2 подтипов (*Drd1* и *Drd2*) и ферменты катаболизма ДА (*Maoa*, *Maob*, *Comt*) определяли методом количественной ОТ-ПЦР в реальном времени в стриатуме, черной субстанции, прилежащих ядрах, гиппокампе, миндалине, фронтальной коре и области ядер шва среднего мозга. Уровни ДА и ДОФУК измеряли с помощью ВЭЖХ в черной субстанции и стриатуме.

Было выявлено снижение уровня экспрессии мРНК генов *Drd2* ($p < 0,05$), *Slc6a3* ($p < 0,05$), *Th* ($p < 0,01$) и повышение мРНК гена *Maob* ($p < 0,01$) в черной субстанции у агрессивных животных по сравнению с ручными. Также у агрессивных крыс повышены уровни мРНК генов *Drd1* ($p < 0,01$), *Comt* ($p < 0,01$), *Maoa* ($p < 0,05$) в среднем мозге. В миндалине также обнаружены высокие уровни мРНК генов *Comt* ($p < 0,01$), *Maoa* ($p < 0,001$), *Maob* ($p < 0,05$) у агрессивных животных. В дополнении показано повышение уровня мРНК гена *Comt* в стриатуме ($p < 0,01$) и гиппокампе ($p < 0,01$). К тому же в гиппокампе обнаружено повышение уровня мРНК гена *Drd1* ($p < 0,05$) и понижение уровня мРНК гена *Drd2* ($p < 0,05$) у агрессивных крыс по сравнению с ручными. Достоверных различий в уровне ДА и ДОФУК в исследованных структурах не обнаружено.

Таким образом, впервые показано, что у животных с генетически детерминированным агрессивным поведением значительно изменяется уровень экспрессии генов, вовлеченных в метаболизм и рецепцию дофамина.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ (№ 17-04-00183).

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

Особенности нейрогенеза в гиппокампе преждевременно стареющих крыс OXYS в ювенильный период

Т. А. Козлова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Увеличение продолжительности жизни населения развитых стран приводит к повышению риска развития ассоциированных с возрастом заболеваний, в том числе — болезни Альцгеймера (БА). Лежащие в основе заболевания нейродегенеративные процессы тесно связаны с изменениями пластичности мозга. Показано, что нейрогенез — ключевой механизм пластичности — нарушается при БА, но критический возраст развития и масштабы манифестации этих нарушений изучены недостаточно. Для исследования возможной связи развития признаков БА с изменениями нейрогенеза в гиппокампе в ювенильный период использовали крыс OXYS — модель наиболее распространенной спорадической формы заболевания.

Работа выполнена на самцах крыс линий OXYS и Вистар (контроль) в возрасте 10, 20 и 45 дней. Плотность зрелых и незрелых нейронов в зубчатой извилине (ЗИ) гиппокампа оценивали методом иммуногистохимии. Моторно-исследовательскую активность и уровень тревожности крыс оценивали в тестах «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темный цилиндр», способность к обучению — в «Водном тесте Морриса».

Анализ результатов показал, что в возрасте 10 дней у крыс OXYS плотность клеток нейронального ряда в ЗИ гиппокампа почти вдвое больше, чем у крыс Вистар, за счет повышенного содержания нейробластов I и II типов. К возрасту 20 дней плотность клеток нейронального ряда в ЗИ крыс OXYS снижается до уровня крыс Вистар. К 45 дням плотность клеток в ЗИ крыс Вистар возрастает за счет увеличения плотности нейробластов II типа, у крыс OXYS значимых изменений не происходит. Крысы OXYS демонстрируют сниженную моторно-исследовательскую активность во всех трех возрастах и повышенный уровень тревожности в 45 дней по сравнению с крысами Вистар. Также у крыс OXYS в возрасте 45 дн. способность к обучению в водном тесте Морриса ниже, чем у крыс Вистар.

Таким образом, выявленные в ювенильный период изменения процессов нейрогенеза в гиппокампе и, как следствие, нарушение поведения крыс OXYS могут лежать в основе развития с возрастом признаков БА.

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

**Исследование поведения рыб вида *Danio rerio* в тесте
«Новый резервуар» при предъявлении ингибитора
стриатум-специфичной тирозиновой протеинфосфатазы, ТС-2153,
и классического антидепрессанта флуоксетина**

И. О. Колотыгин

Новосибирский государственный университет

Стриатум — специфичная тирозиновая протеинфосфатаза (STEP), которая является белком внутриклеточной трансдукции. Увеличение количества STEP в мозге приводит к нейродегенеративным заболеваниям. В связи с этим изучение влияния ингибитора STEP-гидрохлорида 8-трифторметил-1,2,3,4,5-пентатиепин-6-амин (ТС-2153) на поведение и сравнение его с классическими препаратами является актуальной задачей. Ранее было показано, что ТС-2153 оказывает выраженные антидепрессантный и антикаталептический эффекты у мышей. В последние годы в качестве фармакологической модели активно используются рыбы вида *Danio rerio*, что объясняется легкостью в обращении и содержании.

Целью данной работы было исследование влияния острого (три часа) и хронического (14 дней) предъявления флуоксетина (в дозах 0,125 или 0,25 мг/л) и ТС-2153 (в дозах 0,125 или 0,25 мг/л) на поведение *Danio rerio*.

Эксперименты проводили на взрослых особях длиннохвостых *Danio rerio*. Животные были разделены на четыре группы: растворитель, ТС-2153, флуоксетин и ТС-2153/флуоксетин. Поведение оценивали с помощью теста «Новый резервуар». Животное помещали в новый для него резервуар с чистой водой и в течение пяти минут регистрировали его поведение. В данном тесте животное предпочитает находиться на дне сосуда, что говорит о тревожности, вызванной незнакомой средой. Классический антидепрессант флуоксетин снижает время нахождения животного на дне резервуара.

Было показано, что острое и хроническое предъявление флуоксетина и ТС-2153 снижало время нахождения рыбы в нижней части сосуда. Однако характер поведения животных существенно отличался. Рыбы, получавшие флуоксетин, плавали преимущественно на поверхности, тогда как рыбы с ТС-2153 исследовали всю площадь резервуара. При совместном предъявлении ТС-2153 и флуоксетина также было обнаружено снижение времени, проведенного на дне бассейна. Таким образом, в данной работе впервые показан анксиолитический эффект ингибитора STEP (ТС-2153) на рыб *Danio rerio*.

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

Влияние длины светового дня на серотониновую систему мозга и поведение мышей с наследственными различиями в активности ключевого фермента синтеза серотонина — триптофангидроксилазы 2

П. Д. Комлева, И. Е. Сорокин

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Сезонное аффективное расстройство (САР) характеризуется рецидивирующей депрессией, возникающей в осенне-зимний период. Показано участие серотониновой (5-НТ) системы мозга в патогенезе САР. Триптофангидроксилаза 2 (ТПГ2) является ключевым ферментом синтеза 5-НТ в мозге. Предполагается, что мутации в гене *Tph2* могут быть ассоциированы с риском развития САР. Известно, что аллель 1473G полиморфизма C1473G в гене *mTph2* снижает вдвое активность фермента в мозге у мышей.

Целью данной работы является выяснение роли ключевого фермента синтеза 5-НТ, ТПГ2, в реакции нервной системы и поведения на короткий световой день у мышей B6-1473C и B6-1473G с наследственной высокой и низкой активностями ТПГ2.

Мыши каждого генотипа были разделены на две группы, которые содержались в течение месяца при длинном (14 часов) или коротком (4 часа) световом дне. Короткий световой день увеличивал депрессивноподобную неподвижность в тесте «Принудительное плавание» у мышей обеих линий. В то же время содержание при коротком дне снижало уровень 5-НТ, увеличивало уровень 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-НІАА) и отношение 5-НІАА/5-НТ в гиппокампе у мышей B6-1473G, но не у B6-1473C. В среднем мозге содержание при коротком дне снижало уровень 5-НТ и увеличивало отношение 5-НІАА/5-НТ у мышей обоих генотипов. Содержание при коротком дне увеличивало экспрессию гена *Htr2a* в гиппокампе и среднем мозге у мышей B6-1473G, но не у B6-1473C.

Таким образом, полиморфизм C1473G усиливает эффект короткого дня на метаболизм 5-НТ в гиппокампе и экспрессию гена *Htr2a* в гиппокампе и среднем мозге у мышей.

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

**Морфологические проявления активации раннего фиброзирования
легких мышей линии BALB/c при инфицировании
сезонным вирусом гриппа A/H1N1**

А. Ю. Кондаурова

Научно-исследовательский институт клинической
и экспериментальной медицины, г. Новосибирск

Вирус гриппа является одним из самых распространенных патогенов человека. На данный момент в литературе существуют разрозненные клинические данные о развитии раннего фиброза, который развивается в короткие сроки в течение инфекции вирусом гриппа. Этот феномен, нехарактерный для острых инфекций, несомненно открывает новое поле для исследования данного патологического процесса.

Работа выполнена на 45 мышах-самцах линии BALB/c, интраназально инфицированных сезонным штаммом вируса гриппа A/H1N1 A/Tomsk/13/2010 дозой 1 МЛД_{50} . Выведение животных из эксперимента осуществляли на 1, 3, 6, 10, 14, 21 и 30 сутки эксперимента. Объектами исследования были легкие, подвергшиеся стандартной гистологической обработке и дальнейшему использованию иммуногистологического метода и гистологической окраски по различным методикам для получения полной гистологической картины патологического процесса.

В ходе эксперимента было выявлено развитие острого инфекционного процесса, представленного обширными зонами отека, кровоизлияний, клеточной инфильтрации, а также участками ателектаза и острой эмфиземы. Развитие деструктивных процессов коррелировало с количеством клеток легких, экспрессирующих маркер вируса гриппа А.

Также в данной работе был детектирован периваскулярный и перибронхиальный фиброз ткани легких, начиная с ранних сроков заболевания. Объемная плотность фиброзной ткани, состоящей в основном из коллагена типа I ($< 50\%$) и коллагена типа III ($< 10\%$) и небольшого количества коллагена IV типа и эластина, увеличивалась в ходе эксперимента и к 30 суткам составила 21 % от поля зрения. Скачку образования внеклеточного матрикса предшествовал пик количества макрофагов и фибробластов, экспрессирующих маркер TGF- $\beta 1$. Это подтверждает гипотезу о его участии в развитии раннего фиброза и объясняет преобладание новообразованного коллагена в фиброзной ткани.

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

Экспрессия AMPA-рецепторов глутамата в головном мозге крыс при индукции депрессивно-подобного состояния стрессом

Д. А. Коншу

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Стресс является важной предпосылкой развития психических заболеваний. Одной из причин может быть нарушение функционирования глутаматергической системы мозга, в частности, изменение экспрессии AMPA-рецепторов.

Для выяснения вопроса о характере индуцированных стрессом изменений экспрессии AMPA-рецепторов и возможной связи этих изменений с симптомами депрессии, остающегося до сих пор дискуссионным, исследовали влияние воздействий, индуцирующих депрессивно-подобное состояние, на уровни мРНК генов субъединиц ионотропных рецепторов глутамата AMPA типа GRIA2 и GRIA3 (ПЦР в реальном времени в технология Taq-man) в гиппокампе, миндалине, коре, среднем мозге и в стволовой части мозга. Взрослых самцов крыс линии Вистар ежедневно подвергали принудительному плаванию (2 или 14 дней) или ограничению подвижности (14 дней). Двухдневный стресс, который еще не вызывает выраженных проявлений депрессивно-подобного состояния, повышал экспрессию GRIA2 и GRIA3 в гиппокампе, а также GRIA3 в среднем мозге. Каждый из использованных продолжительных стрессоров, индуцирующих симптомы депрессии, снижал экспрессию GRIA3 в гиппокампе и среднем мозге, а ограничение подвижности еще и в стволовой части мозга. Также оба продолжительных стрессора снижали уровень мРНК GRIA2 в гиппокампе.

Таким образом, при кратковременном и продолжительном воздействии стрессоров экспрессия субъединиц AMPA-рецепторов изменяется в противоположных направлениях. Изменения, возникающие при проявлении индуцированных стрессорами симптомов депрессии, могут участвовать в механизмах формирования индуцированной стрессом психопатологии.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-00587.

Научный руководитель — чл.-корр. РАН, д-р биол. наук Н. Н. Дыгало

Исследование нейротрофического обеспечения сетчатки крыс при старении и развитии ретинопатии

М. Д. Матыцин

Новосибирский государственный университет

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) — комплексное, многофакторное заболевание, являющееся основной причиной потери зрения людьми старше 60 лет. Развитие ВМД связано с изменением содержания нейротрофических факторов — фактора роста нервов (NGF) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF), однако данных об изменении нейротрофического обеспечения сетчатки при старении и в динамике развития ВМД крайне мало.

Цель работы — изучить возрастные изменения содержания нейротрофических факторов в сетчатке крыс Вистар и преждевременно стареющих крыс OXYS, характеризующихся ранним развитием ретинопатии, аналогичной ВМД у людей.

Анализ данных RNA-seq сетчатки показал, что наиболее существенные изменения экспрессии генов сигнального пути нейротрофинов у крыс обеих линий наблюдаются с возраста 20 дней до трех месяцев и связаны с развитием клетки и клеточной гибелью, транспортом белков. В 20 дней при отсутствии клинических признаков ретинопатии у крыс OXYS изменена, по сравнению с крысами Вистар, экспрессия девяти генов, связанных с сигнальным путем нейротрофинов: уровень мРНК *Calm2*, *Rap1a*, *Rap1b*, *Rps6ka3*, *Rps6ka6* и *Sos2* снижен, *Atf4*, *Mapk13*, *Mapk14* повышен. В три месяца в период активной манифестации признаков ВМД у них изменена экспрессия семи генов этого сигнального пути: у шести — снижена (*Foxo3*, *Nfkb1*, *Nfkbia*, *Pdk1*, *Rps6ka2*, *Shc3*), а у одного (*Pik3r2*) — повышена. В период прогрессии ретинопатии (18 мес.) у крыс OXYS изменена экспрессия 19 генов, продукты которых ассоциированы с развитием нервной системы и передачей сигналов. Иммуногистохимический анализ выявил в сетчатке крыс OXYS в 20 дней и 18 мес. повышенную частоту солокализации proBDNF и p75^{NTR}, что указывает на усиление апоптоза и связанное с глиозом макроглии усиление солокализации NGF и TrkA в 18 мес.

Таким образом, проявлению клинических признаков ВМД у крыс OXYS предшествуют изменения баланса системы нейротрофинов и их сигнального пути. По мере прогрессии заболевания у крыс OXYS выявляются признаки функционального напряжения системы нейротрофинов.

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

**Метастазирование аденокарциномы легкого Льюис у мышей
при лечении топотеканом и ингибитором тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы**

А. П. Меньщикова

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск,
Институт молекулярной патологии и патоморфологии, г. Новосибирск

Топотекан (ТПК) часто используется в схемах противоопухолевой терапии, но его действие не всегда оказывается достаточно эффективным. Действуя как ингибитор Топоизомеразы I (Top1), он связывается с комплексом Top1-ДНК и предотвращает повторную сшивку нитей ДНК. В устранении таких дефектов ключевую роль играет Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза I (Tdp1).

Сотрудниками НИОХ им. Н. Н. Ворожцова СО РАН был получен ингибитор Tdp1 (ИНГ). Мы исследовали антиметастатическую активность данного соединения на модели аденокарциномы Льюис (LLC) *in vivo*, используя ТПК как терапевтическое средство. Для этого у 44 мышей-самцов линии C57Bl на поверхности легкого был проведен подсчет макromетастазов, морфологический и морфометрический анализ парафиновых срезов легкого, окрашенных гематоксилином и эозином. На третий день после внутривенной инокуляции опухоли (200 тыс. кл./мышь) животные были разделены на шесть групп: без лечения, ТПК (2 мг/кг), ИНГ (6 мг/мышь), сочетанное введение ТПК (2 мг/кг) и ИНГ в дозах 2, 4 и 6 мг/мышь.

На основании полученных данных отмечено достоверное ($p < 0,05$) снижение уровня метастазирования при сочетанном введении препаратов. При изолированном введении ИНГ антиметастатической активности не выявлено. На гистологических препаратах животных всех групп регистрировались микроскопические метастазы разной величины. Они были представлены гетерогенной группой клеток с яркой базофильной окраской. У мышей, получавших только ИНГ, наблюдалась более выраженная гетерогенность клеток метастазов, прорастание в них соединительной ткани и мелких сосудов. Микрометастазы при лечении ТПК были мельче, чем в контроле, иногда были окружены мононуклеарами. При сочетанном лечении снижение размера метастазов сопровождалось увеличением моноцитарной инфильтрации, обусловленной разрушением опухолевых клеток. Таким образом, увеличение антиметастатического эффекта при сочетанном введении ИНГ и ТПК можно считать основанием для дальнейших исследований с оптимизацией схемы и доз их применения.

Научные руководители — д-р биол. наук,
проф. Е. Л. Лушникова, канд. биол. наук Попова Н. А.

Исследование влияния пониженной экспрессии транскрипционного фактора гена 5-HT1A-рецептора *Freud-1* на поведение и экспрессию ключевых генов серотониновой системы мозга

П. А. Огурцова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Известно, что 5-HT1A-рецепторы, принадлежащие к подсемейству серотониновых (5-HT) рецепторов, вовлечены в механизмы депрессии, тревожности и агрессивного поведения. В настоящее время регуляция транскрипции 5-HT1A-рецептора еще не изучена до конца, хотя именно она может играть ключевую роль в патогенезе депрессивных расстройств. 5-HT1A-рецепторы в головном мозге находятся под контролем нескольких транскрипционных факторов, включая репрессор *Freud-1*. Недавние исследования показали, что *Freud-1* участвует в развитии психопатологии, в том числе в механизме большого депрессивного расстройства.

В данной работе было изучено влияние подавления экспрессии гена *Freud-1* в среднем мозге мышей на их поведение и экспрессию генов ключевых рецепторов серотониновой системы. Мышам линии C57BL/6 в средний мозг вводили аденоассоциированные вирусные частицы, несущие плазмиду AAV SynH1-2_shRNA *Freud-1*, кодирующую образующую шпильку малую РНК, подавляющую экспрессию гена, кодирующего *Freud-1*. Показано, что у мышей с пониженной экспрессией *Freud-1* наблюдалось снижение вертикальной исследовательской активности и уменьшение продолжительности атаки. Также установлено, что подавление экспрессии *Freud-1* приводит к снижению уровня мРНК 5-HT1A-, 5-HT2A- и 5-HT7-рецепторов в среднем мозге.

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

Активность трансаминаз в печени крыс со стрептозотоциновым диабетом при введении блокатора глюкокортикоидных рецепторов мифепристона

К. В. Пасечная

Новосибирский государственный университет

Блокатор глюкокортикоидных рецепторов мифепристон (МФ) используется в схемах лечения заболеваний, обусловленных гиперкортицизмом. При этом МФ активирует по механизмам обратной связи синтез глюкокортикоидных гормонов (ГКГ) в надпочечниках, что ставит вопрос о возможности преодоления ГКГ блокады их рецепторов и осуществления метаболических эффектов на фоне введения МФ. Целью работы было изучить активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ) и тирозинаминотрансферазы (ТАТ) в печени здоровых крыс и животных со стрептозотоциновым диабетом (СтД) при длительном введении МФ.

Здоровым крысам самцам породы Вистар и животным со СтД, вызванным однократным введением стрептозотоцина в дозе 50 мг/кг массы тела, ежедневно интраперитонеально вводили раствор NaCl или раствор МФ в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 15 суток. Активность ферментов в печени измеряли ферментативными колориметрическими методами.

Активность ТАТ у крыс со СтД оказалась повышенной относительно интактных крыс в 1,3 раза, а введение растворов NaCl и МФ вызвало дополнительно увеличение активности ТАТ в 1,9 и 2 раза соответственно по сравнению с крысами со СтД. Активность АСТ у крыс со СтД повысилась в 1,4 раза, а введение растворов NaCl и МФ вызвало повышение активности фермента в 1,5 и 1,8 раза соответственно относительно крыс со СтД. Активность АЛТ у крыс со СтД повысилась в наибольшей степени относительно интактных крыс — в 1,8 раза, а введение растворов NaCl и МФ вызвало дополнительно повышение активности АЛТ в 1,7 и 2,6 раза соответственно относительно крыс со СтД.

Полученные результаты позволяют говорить о том, что у животных со СтД глюкокортикоидные гормоны, концентрация которых в крови высока, а в условиях введения МФ повышается дополнительно, могут преодолевать блокаду рецепторов и осуществлять свои регуляторные функции в гепатоцитах, в частности, индуцировать активность аминотрансфераз на фоне снижения уровня инсулина в организме при СтД.

Научный руководитель — д-р биол. наук Н. А. Пальчикова

**Влияние хронической алкоголизации
на экспрессию нейротрофического фактора мозга (BDNF)
и его рецепторов в мозге мышей**

А. В. Першина

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Нейротрофический фактор мозга BDNF играет значительную роль в процессах роста и развития нервной системы, а также нейрональной пластичности. Он важен как в регуляции нормальной активности нейронов, так и при различных патологических процессах нервной системы (шизофрения, депрессивные расстройства). Кроме того, BDNF участвует в усилении эффектов от алкоголя и других наркотических веществ. Рецептор TrkB, имеющий высокую аффинность к BDNF, вовлечен в процессы запасаания и перераспределения BDNF. Положительные эффекты BDNF непосредственно связаны с активацией TrkB-рецепторов. Белок-предшественник BDNF proBDNF имеет высокое сродство с рецептором p75, активация которого может инициировать процессы апоптоза в мозге. Известно, что длительное потребление этанола приводит к активации апоптотических процессов и нейродегенерации, в то же время до сих пор не было проведено комплексного изучения эффекта хронической алкоголизации на BDNF и его рецепторы в различных структурах мозга.

Целью данной работы было изучение влияния хронической алкоголизации на уровень белков proBDNF и BDNF и их рецепторов p75 и TrkB, а также на экспрессию генов, кодирующих эти белки, в структурах мозга мышей линии C57Bl/6.

Показано, что хроническая алкоголизация приводит к уменьшению уровня мРНК гена *bdnf* в среднем мозге ($p < 0,05$) и увеличению уровня белка proBDNF в среднем мозге ($p < 0,05$) и фронтальной коре ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Также обнаружены тенденции к понижению уровня мРНК гена, кодирующего p75, в коре ($p = 0,07$) и повышению уровня мРНК гена *bdnf* в гипоталамусе ($p = 0,08$) и амигдале ($p = 0,08$). При этом не обнаружено влияния алкоголизации на уровни белков рецепторов p75 и TrkB во всех исследуемых структурах (средний мозг, фронтальная кора, гиппокамп, гипоталамус, амигдала).

Таким образом, хроническая алкоголизация изменяет паттерны экспрессии гена *bdnf* и белка proBDNF у мышей линии C57Bl/6.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 17-15-01021.

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

**Отдаленные эффекты хирургического стресса
во время ранней беременности на поведение и плотность нейронов
в мозге крыс линии OXYS**

О. М. Петрова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Хирургические воздействия во время ранней беременности оказывают стрессовое влияние на организм матери и могут иметь отдаленные эффекты по отношению к потомству. Изменения поведения и таких областей мозга, как гиппокамп и кора у потомков при хирургических воздействиях на мать во время беременности практически не изучены.

В работе были исследованы морфометрические показатели мозга и поведение у взрослых потомков крыс OXYS, родившихся после такого рода воздействий. В эксперименте были использованы крысы, имеющие SPF-статус. Самкам экспериментальной группы (OXYS-PS) через 96 часов после спаривания с фертильными самцами была проведена хирургическая операция, аналогичная той, что проводится при трансплантации эмбрионов у крыс. В качестве контрольной группы использовались интактные крысы линии OXYS. У потомков в возрасте трех месяцев исследовалось поведение в тесте «Открытое поле» (ТОП) и тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), а в возрасте пяти месяцев была изучена плотность нейронов после окраски криосрезов мозга по методу Ниссля в двух областях гиппокампа (CA1 и CA3) и в префронтальной коре. В результате было установлено, что у потомков из группы OXYS-PS имелось достоверное снижение плотности нейронов в областях CA1 и CA3 гиппокампа, а также в префронтальной коре относительно интактных крыс линии OXYS. При исследовании поведения крыс в ТОП было показано, что крысы из опытной группы OXYS-PS исследовали меньшую область арены, проводили меньше времени в ее центре и демонстрировали сниженное число и продолжительность стоек в сравнении с интактными крысами линии OXYS. В тесте ПКЛ крысы линии OXYS-PS продемонстрировали достоверно сниженную длительность выглядываний из закрытых рукавов в сравнении с OXYS.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что стресс, испытанный беременными самками крыс во время наиболее ранних этапов развития зародышей, имеет негативное влияние, проявляющееся даже у взрослых особей (три и пять месяцев), развившихся из этих зародышей и выражающееся в снижении исследовательской активности, усилении тревожности и снижении плотности нейронов в отдельных областях гиппокампа и коры мозга.

Научный руководитель — д-р биол. наук С. Я. Амстиславский

Эффект отсутствия белка синаптической адгезии кальсинтенина-2 на социальное поведение мышей и дофаминовую систему

С. В. Раннева

Новосибирский государственный университет, Институт физиологии
и фундаментальной медицины СО РАМН, г. Новосибирск

Дисфункция социального поведения является первым диагностическим критерием такого нейropsychиатрического заболевания, как аутизм. Одной из гипотез этиологии социального дефицита при аутизме является дисфункция системы социальной мотивации и вознаграждения, в которой нейромедиатор дофамин занимает центральное место. Кроме того, аутизм называют «болезнью синапсов», так как у пациентов с данным расстройством найдены мутации в генах, кодирующих белки синаптической адгезии. Кальсинтенин-2 (*Clstn2*) — это белок синаптической адгезии, принадлежащий к суперсемейству кадгеринов. На сегодняшний момент известно, что мыши, нокаутные по гену *Clstn2* (*Clstn2*-KO), проявляют аутизм-подобные эндотипы, включая дефицит социальной мотивации и социального распознавания, повторяющееся поведение, параллельно с дефицитом ГАМКергической системы. Однако вклад дофамина при дефиците социального поведения у *Clstn2*-KO мышей остается неизвестным.

Целью данной работы явилась оценка социального вознаграждения, социальной коммуникации и выявление особенностей дофаминергических нейронов в структурах головного мозга, ответственных за когнитивный контроль и социальное вознаграждение у *Clstn2*-KO мышей. В работе применялся тест «Социальное предпочтение места», детекция ультразвуковой вокализации (УЗВ), а также идентификация маркеров дофаминовой системы на замороженных срезах головного мозга с опорой на иммуногистохимический метод. *Clstn2*-KO мыши проявили дефицит социального вознаграждения по сравнению с мышами дикого типа (WT). У *Clstn2*-KO самцов в возрасте пяти-шести дней наблюдалась повышенная УЗВ с повышенным числом «щелчков», однако в возрасте восьми-девяти дней данные показатели существенно снижались по сравнению с мышами WT. Иммуногистохимический метод включал анализ оптической плотности D1 рецепторов COMT и TH в медиально-префронтальной коре головного мозга и вентро-теgmentальной области у *Clstn2*-KO мышей по сравнению с WT мышами.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 16-04-00534). *Clstn2*-KO / WT мыши входят в состав УНУ «Биологическая коллекция — генетические биомодели нейropsychических заболеваний» (№ 493387) НИИФФМ.

Научный руководитель — канд. биол. наук Т. В. Липина

Длительное отделение от матери в ранний период жизни, приводящее к нарушению способности к обучению у взрослых самок мышей

Ю. А. Рябушкина, В. В. Решетников

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Гиппокамп — важная часть лимбической системы, которая участвует как в процессах обучения, консолидации памяти и ее использовании, так и в регуляции стрессорного ответа. У грызунов первые недели постнатального развития являются критическим периодом для развития гиппокампа. Неблагоприятные события в ранней жизни могут нарушить развитие нервной системы и формирование поведенческого фенотипа, изменить способность ГГНС отвечать на последующие стрессовые воздействия.

В данной работе было использовано два типа раннего стресса: длительное отделение детенышей от матерей (три часа в день) и кратковременное отделение (15 минут в день) в течение первых двух недель жизни. Исследовали влияние раннего стресса на способность к обучению (с использованием тестов водного лабиринта Морриса и распознавания нового объекта), количество зрелых нейронов (NeuN-положительные клетки) в разных зонах гиппокампа, количество созревающих (DCX-положительные клетки) и делящихся нейронов (Ki-67-положительные клетки) в зубчатой извилине у взрослых животных.

В данной работе исследовали только самок, поскольку было показано, что чаще всего они более чувствительны к различным стрессовым воздействиям. Кроме того, с помощью количественной ПЦР в гиппокампе была оценена экспрессия генов раннего ответа, являющихся маркерами нейрональной активности.

В результате работы было показано, что взрослые самки, подвергавшиеся в раннем возрасте длительному отделению, демонстрировали сниженную двигательную активность. У них также были найдены нарушения пространственной памяти и способности к распознаванию. Самки с опытом кратковременного отделения в раннем возрасте показали менее выраженные изменения. В дополнение к этому длительное отделение в ранней жизни снизило количество зрелых нейронов в зоне СА3 гиппокампа. Таким образом, длительный, но не кратковременный стресс в раннем возрасте приводит к нарушению памяти и снижению количества нейронов в СА3.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. П. Бондарь

Влияние голодания и последующего потребления пищи на экспрессию генов, регулирующих углеводно-жировой обмен в печени у самцов и самок мышей

Н. А. Ситникова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Ожирение печени (стеатоз) является широко распространенным заболеванием и у мужчин встречается чаще, чем у женщин, что указывает на половые различия в регуляции метаболизма в печени. Стеатоз развивается при ожирении, интоксикациях, нарушении питания и иногда при голодании. Фактор роста фибробластов 21 (FGF21) синтезируется в печени, регулирует в ней обменные процессы и адаптирует организм к голоду. Неизвестно, вовлечен ли FGF21 в зависящую от пола регуляцию углеводно-жирового обмена в печени.

Наша задача — оценить экспрессию генов ферментов углеводно-жирового обмена и сопоставить ее с экспрессией гена FGF21 при голодании и последующем потреблении пищи (рефидинг) у самцов и самок мышей линии C57Bl. 15-недельных животных лишали пищи на 24 часа, затем часть из них получала пищу в течение шести часов. Оценивали относительную экспрессию генов глюкокиназы (Gck), пируваткиназы (Pklr), фосфоенолпируваткарбоксилазы (Pck-1), глюкозо-6-фосфотазы (G6P), липопротеинлипазы (Lpl), синтазы жирных кислот (Fas), FGF21, PPARα (активатор экспрессии FGF21) методом ОТ-ПЦР.

Экспрессия генов Gck и Fas снижалась при голоде (подавление гликолиза и липогенеза) и повышалась при рефидинге, а генов Pck-1, G6P (глюконеогенез), Lpl — напротив, повышалась при голоде и снижалась при рефидинге. Половые различия проявлялись только в экспрессии PPARα и FGF21: в ответ на голод экспрессия этих генов многократно возрастала и у самок была в два раза выше, чем у самцов. Кроме того, экспрессия гена Fas при рефидинге у самцов была выше, чем у самок, что может указывать на более интенсивный липогенез у самцов при потреблении пищи после голода.

Полученные результаты подтверждают данные о том, что FGF21 при голоде активирует глюконеогенез и липолиз, ингибирует гликолиз и липогенез. Половые различия по экспрессии FGF21 при голоде позволяют предполагать, что он вовлечен в зависящую от пола регуляцию углеводно-жирового обмена в печени, однако механизмы такой регуляции и участие в ней FGF21 требуют дальнейшего изучения.

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

Эффекты сочетанного действия длительного инфицирования *Opisthorchis felineus* и потребления этанола у мышей

А. В. Слепнева

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Opisthorchis felineus (*O. felineus*) — трематода, являющаяся возбудителем описторхоза и паразитирующая в желчных протоках печени млекопитающих. Данный гельминт широко распространен на всей территории РФ, особенно в Обь-Иртышском регионе. В большинстве случаев хроническая стадия заболевания протекает без выраженной симптоматики, сопровождается усталостью и неспецифической болью в брюшной полости. У людей инфицирование *O. felineus* нередко сочетается с потреблением этанола, длительное употребление которого также способствует тяжелым повреждениям печени. Поэтому представляется целесообразным исследование сочетанного действия инфицирования *O. felineus* и этанола на организм.

В работе были использованы четыре группы мышей инбредной линии C57BL/6: инфицированные личинками *O. felineus* (OF); потребляющие 20%-й раствор этанола (Эт); испытывающие оба воздействия (OF + Эт); интактные животные (Инт). В ходе исследования у всех животных оценивали динамику массы тела, а также суточное потребление пищи и воды / 20%-й этанола. По истечении шести месяцев животных выводили из эксперимента, выделяли печень, головной мозг и селезенку для дальнейшей стандартной гистологической обработки и окраски.

Установлено что животные, потреблявшие этанол, имеют меньшую массу тела, а у мышей OF и OF + Эт было увеличение относительной массы печени и селезенки. Сочетание двух воздействий приводило к росту числа паразитов в желчных протоках печени. При гистологическом исследовании обнаружено наличие паразитов в печени у инфицированных мышей обеих групп и наличие дистрофии гепатоцитов у мышей Эт и OF + Эт. В тканях коры головного мозга у всех экспериментальных мышей выявлено формирование отечно-деструктивного синдрома. Гистологическое исследование селезенки показало диффузное полнокровие красной пульпы у мышей Эт, увеличение числа фолликулов у животных OF и OF + Эт, а также гемосидероз у всех групп, за исключением Инт. Таким образом, суммарное действие двух патогенных факторов — длительного инфицирования *O. felineus* и хронического потребления 20%-го этанола — вызывает более выраженные патоморфологические изменения в тканях исследуемых органов.

Научный руководитель — д-р биол. наук, доцент Д. Ф. Августинович

**Оценка действия нового противогриппозного препарата
на основе ингибитора нейраминидазы на органы мышей
при лечении гриппозной инфекции.**

Е. И. Соловьева

Новосибирский государственный университет

В XX — начале XXI века в мире произошло несколько пандемий, вызванных вирусами гриппа (ВГ), в результате которых погибло большое количество людей. Всемирная организация здравоохранения сообщает о существовании угрозы новых пандемий, так как ВГ продолжают циркулировать в человеческой популяции. ВГ характерно возникновение спонтанных мутаций в их геноме, что делает патогены устойчивыми к современным противогриппозным препаратам. В декабре 2010 года были зарегистрированы 314 штаммов пандемического ВГ А(Н1N1)pdm09 устойчивых к осельтамивиру (препарату из группы ингибиторов нейраминидазы). В настоящий момент ВГ А(Н1N1)pdm09 продолжают циркулировать, став сезонными. В связи с этим необходимо разрабатывать новые современные противогриппозные лекарства.

Целью работы стала оценка противовирусного действия препарата на основе осельтамивира, разработанного сотрудниками Института проблем химико-энергетических технологий (ИПХЭТ) СО РАН (г. Бийск).

Для этого мышей линии BALB/c интраназально инфицировали адаптированным (вызывающим летальность среди мышей) штаммом А/Tomsk/273-MA1/2010(Н1N1pdm09). Первая группа животных получала в течение пяти суток после инфицирования (п.и.) разработанный препарат осельтамивира этоксисукцинат; вторая группа животных получала в течение пяти суток сертифицированный препарат сравнения *Тамифлю* (*Tamiflu*); третья группа животных являлась контрольной и не получала противогриппозных препаратов. Животных выводили из эксперимента на 3, 5, 7, 10 и 21 сутки (п. и.) и осуществляли забор органов для вирусологического и гистологического анализов.

В результате было выяснено, что летальность в первой группе животных составила 7 %, во второй группе — 20 %, в контрольной группе — 100 %. Титр ВГ в легких мышей первой и второй групп, получавших противогриппозные препараты, был достоверно ниже, чем в контрольной группе, и регистрировался стабильно до 10 суток включительно. Кроме того, в образцах органов (сердце, печень, почка, селезенка, кишка) животных, получавших противогриппозные препараты, вирус не был зарегистрирован, в отличие от образцов контрольной группы.

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

**Изучение хронического влияния противовирусного
агента камфецина на концентрирующую функцию почки крыс**

Цю Юй

Новосибирский государственный университет

В организме млекопитающих почки являются основным эффекторным органом, обеспечивающим поддержание водно-солевого баланса. Они выполняют ряд жизненно важных функций: сохранение объема жидкости, осмотического давления плазмы крови, концентрации электролитов и др. Также их важной функцией является экскреция чужеродных для организма веществ, в том числе лекарственных препаратов. Новый противовирусный агент камфецин (1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден-аминоэтанол), синтезированный в НИОХ СО РАН (Яровая и др., 2013), относится к производным камфоры, способен ингибировать репродукцию вируса гриппа и не обладает цитотоксичностью (Zarubaev et al., 2015). Однако недостаточно изучено влияние камфецина на концентрирующую функцию почек млекопитающих. В связи с этим целью данной работы явилось изучение влияния камфецина на функциональные и структурные параметры системы осмотического концентрирования почки крыс.

Эксперименты выполнены на половозрелых крысах линии WAG с соблюдением Хельсинкской декларации о работе с экспериментальными животными. Камфецин вводили в дозировке 100 мг/кг массы тела, в качестве препарата сравнения использовали ремантадин (100 мг/кг массы тела). Препараты вводили в течение 7 и 14 суток один раз в день внутривентрально. В течение эксперимента у животных собирали пробы мочи, в которых определяли концентрацию осмотически активных веществ криоскопическим методом. Диурез определяли как количество спонтанно экскретируемой мочи за фиксированное время. Скорость клубочковой фильтрации определяли по клиренсу эндогенного креатинина и уровню мочеотделения. Проведено светооптическое изучение срезов почки, окрашенных гематоксилин-эозином и алциановым синим. Выполнено морфометрическое определение размера капсулярного пространства почечных телец и высоты вазопрессин-чувствительного эпителия собирательных трубок сосочка почки.

Полученные в ходе исследования результаты обсуждаются с точки зрения хронического влияния противовирусного агента камфецина и ремантадина на функциональные и структурные характеристики почек, обеспечивающих поддержание водно-солевого гомеостаза.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент В. А. Лавриненко

Изучение хронического влияния диазаадамантанового производного К1-8 на концентрирующую функцию почки крыс

Чу Вэй

Новосибирский государственный университет

Почка играет важную роль в поддержании гомеостатических показателей организма. Многие лекарственные препараты, включая производные диазаадамантана, метаболизируются и выводятся почками.

Химический агент К1-8 (2-((1R,5S)-6,6,-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил)-5,7-диметил- 1,3-диазаадамантан-6-он) получен в НИОХ СО РАН в результате реакции объединения диазаадамантанов и монотерпеноидных фрагментов (Ponomarev et al., 2015). Известно, что соединение не обладает токсичностью и противовоспалительной активностью, но проявляет анальгезирующий эффект. Ранее установлено, что К1-8 не приводит к язвам и эрозиям желудочно-кишечного тракта и действует посредством активации СВ1-рецепторов. Однако остается малоизученным влияние К1-8 на характеристики концентрирующей функции почки млекопитающих. В связи с этим целью работы явилось исследование морфофункциональных параметров осмотического концентрирования почки крыс в условиях действия агента К1-8.

Эксперименты выполнены на половозрелых крысах линии WAG, которые были разделены на восемь групп: интактные животные; контрольные животные, которым вводили физиологический раствор; группа с введением агента К1-8 в дозировке 20 мг/кг массы тела; группа с введением тримебутина (как препарата сравнения) в дозировке 100 мг/кг массы тела. Введение всех препаратов осуществляли внутривентрикулярно раз в сутки в течение 7 и 14 дней. Работа выполнялась с соблюдением принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Проанализированы следующие функциональные параметры: интенсивность диуреза, скорость клубочковой фильтрации, осмоляльность мочи, клиренс осмотически активных веществ и осмотически свободной воды, уровень реабсорбции осмотически свободной воды. Проведено морфометрическое изучение подкапсулярного пространства клубочков почки, высоты вазопрессин-чувствительного эпителия собирательных трубок. Изучено распределение гиалуронана на срезах гистохимическим методом.

Полученные результаты обсуждаются с позиции влияния К1-8 и тримебутина на функциональные и структурные показатели процесса осмотического концентрирования в зависимости от продолжительности введения.

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

**Создание направленных индуцибельных векторов
для исследования норадренергических нейронов головного мозга**

Е. В. Шабурова

Новосибирский государственный университет

Норадренергическая система критически важна для правильной работы мозга. Известно, что ее нейроны принимают участие в регуляции цикла сна / бодрствования, тревожного поведения, боли, запоминания и реакции на новый стимул, а также обладают нейропротекторным действием. Изучение молекулярного и функционального разнообразия норадренергических нейронов может помочь прояснить способность этой системы регулировать огромное разнообразие ответов во всей ЦНС.

Одним из перспективных методов изучения нейротрансмиссивных систем головного мозга является использование тканеспецифичных вирусных векторов. После доставки к исследуемой структуре эти векторы направленно запускают экспрессию трансгенов в тех клетках, в которых работает их тканеспецифичный промотор. Для того чтобы вектор вносил минимальные изменения в нормальную работу нейрона, необходимо обеспечить контроль над работой промотора и экспрессией трансгена при помощи тетрациклин-индуцибельной системы.

Для направленной экспрессии в целевые нейроны требуется сконструировать лентивирусные вектора, в которых экспрессия белка-репортера контролируется многократно повторенными сайтами связывания $\rho\text{ox}2\text{a}/2\text{b}$, являющимися специфичными для норадренергических нейронов. Кроме того, данные векторы содержат элементы тетрациклин-зависимой системы Tet-ON, что позволяет установить контроль над считыванием гена интереса. После сборки вирусных частиц и последующих стадий выделения и очистки проводится трансфекция клеточных линий глиомы C6 и феохромоцитомы PC12 для оценки силы и специфичности полученного промотора относительно уже известных.

В результате работы получены конструкторы для направленной индуцибельной экспрессии трансгена в норадренергических нейронах.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-60103.

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

Морфологические изменения опухолевых клеток при инфицировании штаммами вируса болезни Ньюкасла

Е. В. Шекунов, К. Ю. Юрченко, Л. В. Шестопалова, А. М. Шестопалов
Новосибирский государственный университет, Научно-исследовательский
институт экспериментальной и клинической медицины, г. Новосибирск

Использование онколитических вирусов при раковых заболеваниях представляет перспективный метод лечения вследствие способности селективно оказывать цитолитическое воздействие на неопластические клетки. Считается, что инфицирование онколитическим вирусом ВБН запускает в опухолевых клетках активацию клеточной гибели по пути апоптоза, однако механизм до конца не изучен. Вместе с тем все чаще появляются исследования некроптической гибели клеток под действием ВБН.

Целью данной работы является изучение выбора стратегии гибели раковых клеточных линий при воздействии на них штаммами ВБН.

Опухолевые клеточные линии человека, инфицированные диким, выделенным от птицы и вакцинным штаммами вируса болезни Ньюкасла, фиксировали через 3, 24, 72, 144, 240 часов после заражения и распределяли по группам контроля и инфицированных клеток. Стратегию гибели клеток изучали с помощью световой и электронной микроскопии.

В результате проведенного исследования было показано, что вирус болезни Ньюкасла, в частности, природный литический штамм (NDV/Altai/ripeon/770/2011) при воздействии на клеточную линию HeLa (рак шейки матки) вызывает апоптозоподобное изменение органоидов онкогенных клеток. При воздействии вакцинным штаммом Lasota цитотоксический эффект менее выражен, что отражено в незначительном изменении клеточных структур в сравнении с инфицированием диким штаммом. При воздействии на клеточную линию Нер-2 (рак гортани) наблюдается схожая картина. В обеих клеточных культурах отмечено увеличение количества аутофагосом и миелоноподобных структур. В качестве положительного контроля было проведено инфицирование чувствительной модельной клеточной культуры Vero.

Научный руководитель — д-р биол. наук А. М. Шестопалов

ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 575

Исследование носительства частоты генов *HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-DRB1* среди коренного населения Республики Саха (Якутия)

М. Н. Андреев

Медицинский институт Северо-Восточного федерального
университета им. М. К. Аммосова, г. Якутск

Цель исследования — выявление частоты носительства различных аллелей в популяции коренного населения Республики Саха (Якутия) в локусах генов *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-DRB1*. Материалы и методы — исследование проведено по материалам МГЦ ГАУ РС(Я) «РБ№1-НЦМ». Объектом исследования послужили образцы цельной крови реципиентов по трансплантации органов якутской этнической группы ($n = 90$) за 2016–2017 годы. Анализ проведен с помощью коммерческих наборов (Protrans, LIFECODES) согласно протоколу фирмы-производителя.

По результатам исследования выявлены аллельные частоты генов *HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-DRB1*: в локусе *A* выявлено 14 вариантов, наиболее часто встречался вариант *A*02* — 25 %. Далее с небольшим различием следуют: *A*01* — 15,6 %, *A*24* и *A*31* — по 13,9 %. Редкие варианты — *A*09*, **32* — частота составляет 0,6 %. Из 20 различных аллельных вариантов, выявленных в локусе *B*, самыми распространенными являются: *B*40* — 14,4 %, *B*15* — 11,7 %, *B*57* — 9,4 %. Редко встречаются варианты *B*21*, **38*, **39*, **41*, **61* — их частота также составила 0,6 %. Изучение локуса *DRB1* показало наличие 14 вариантов, носительство вариантов *DRB1*04* — 28,9 %, *DRB1*13* — 12,8 %, *DRB1*11* — 11,7 %. Реже всего встречались следующие варианты: *DRB1*17* и **51* — частота 1,1 %. Распространенными генотипами явились: *A*02:31* — 8,9 %, *A*01:24*, *A*01*31*, *A*02:02* — по 7,7 %, *B*40:57*, *B*48:58*, *B*57:58* — 3,3 %, *DRB1*04:04* — 11,1 %, *DRB1*04:13* — 7,7 %, *DRB1*04:08*, *DRB1*04:11* — 5,6 %.

Полученные данные являются первым анализом *HLA*-генов среди якутской этнической группы. Эта информация может быть использована в трансплантологии, в фундаментальной и прикладной науке.

Научные руководители — канд. мед. наук А. Л. Сухомясова,
канд. мед. наук П. И. Гурьева

Экспрессия генов бактериофага MS2 в растительных системах

Д. О. Байрамова, М. А. Томилин
Новосибирский государственный университет

Данная работа является частью проекта Лаборатории генной инженерии Института цитологии и генетики, целью которого является проверка функциональности бактериофага MS2 в его хозяине *E. coli* после сборки фага в растительной экспрессионной системе. Мы предполагаем, что для сборки бактериофага в растении (выбраны *Nicotiana tabacum* линии SR1) достаточно объединить в одной экспрессионной системе гены белка оболочки (CP), матуразы (mat) и геном. Объектами данной работы являются CP и mat.

Растения трансформируются посредством агробактерий *Agrobacterium tumefaciens* штамма EHA105, в которые, в свою очередь, вносится бинарный плазмидный генетический вектор pSim24 (Sahoo DK *et al.*, 2014), в который рестрикционным клонированием внесены последовательности CP и mat. Правильность последовательностей подтверждена секвенированием. Растения к настоящему моменту трансформированы.

Далее следует удостовериться в том, что табачки действительно несут искомые встройки, для этого нужно: 1) провести ПЦР; 2) провести RT-qPCR.

Следующий шаг — объединение генов CP и mat в одном растении, для этого 1) трансформируем последовательно табачные экспланты агробактериями, несущими различные векторы, каждый из которых несет ген устойчивости к своему антибиотику (отбор на селективной среде) и 2) проводим опыление, четверть F1 будут нести две последовательности сразу.

Заключительный этап — узнать, по-прежнему ли MS2 способен заражать кишечную палочку. Для этого нанесем табачный экстракт на бактериальный газон и проведем качественный и количественный анализ полученных фаговых бляшек.

1. Sahoo D. K. *et al.* pSim24 Is a Novel Versatile Gene Expression Vector for Transient Assays As Well As Stable Expression of Foreign Genes in Plants. 2014. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4045853/>.

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

**Особенности синапсиса и рекомбинации
у внутривидовых и межвидовых гибридов
полевых *Microtus (Alexandromys) evoronensis* и *M. maximowiczii***

Т. И. Бикчурина

Новосибирский государственный университет

На ранних этапах видообразования причиной формирования репродуктивной изоляции могут быть как генетическая несовместимость, так и постепенное накопление различий по хромосомным перестройкам. При этом у гетерозигот по хромосомным перестройкам может наблюдаться формирование несбалансированных гамет из-за нарушения сегрегации гомологичных хромосом, вовлеченных в образование мультивалентов. Однако цитологические механизмы этого процесса остаются малоизученными.

Внутривидовые гибриды *M. evoronensis* и межвидовые гибриды близких видов полевых *M. evoronensis* и *M. maximowiczii* являются хорошей моделью для изучения ранних этапов дивергенции популяций с природным полиморфизмом по нескольким хромосомным перестройкам. Проведенный с помощью иммунолокализации ключевых мейотических белков анализ синапсиса и рекомбинации внутри- и межвидовых гибридов позволит изучить последовательные шаги процесса видообразования.

Мы обнаружили значительную дивергенцию в степени мейотических нарушений у самок и самцов. У самок межвидовых гибридов формировались мультиваленты, в которых входило менее 10 элементов, при этом на многих плечах происходил кроссинговер, тогда как у самцов в подавляющем большинстве клеток формировались более сложные мультиваленты, а рекомбинация не происходила совсем. Две группы внутривидовых гибридов показали разную степень сложности формируемых мультивалентов, однако число рекомбинационных событий на клетку было незначительно снижено, по сравнению с родительскими видами.

Таким образом, происходит постепенное увеличение степени сложности синаптических конфигураций среди внутри- и межвидовых гибридов полевых *M. evoronensis* и *M. maximowiczii*, а также между полами. Однако нарушения рекомбинации наблюдаются только у межвидовых гибридов, в мейозе которых образуются сложные конфигурации мультивалентов.

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

Создание линий клеток человека, несущих управляемый доксициклином трансген программируемой нуклеазы AsCpf1

В. А. Вартанова

Новосибирский государственный университет

На сегодняшний день известно, что некодирующая часть генома отнюдь не является «мусорной ДНК», а выполняет важнейшие функции в нормальной жизнедеятельности живой клетки, а также может участвовать в различных патологических процессах. Роль некодирующей части генома (промоторов, энхансеров, инсуляторов, длинных некодирующих РНК, микроРНК, малых ядрышковых РНК и т.д.) в молекулярно-генетических механизмах заболеваний человека пока раскрыта недостаточно. Для изучения этого вопроса необходимы адекватные модельные системы, которые позволяют производить направленное редактирование нуклеотидных последовательностей в культивируемых клетках. Наиболее перспективными на настоящий момент инструментами редактирования нуклеотидных последовательностей являются CRISPR-опосредованные системы. В своей работе мы получили линии клеток 293А, в геномы которых интегрировали трансген программируемой нуклеазы AsCpf1 (необходимого компонента системы CRISPR-Cpf1) под управляемым доксициклином промотором. Таким образом, экспрессия нуклеазы является контролируемой, что снижает вероятность нецелевых эффектов, а также решает проблему эффективности доставки нуклеазы в клетку. Для редактирования генома в такой клеточной модели достаточно доставить направляющую РНК.

Цель работы — получение трансгенных линий клеток человека, несущих трансген AsCpf1.

Была получена плазмидная конструкция pAsCpf1-donor, экспрессирующая нуклеазу AsCpf1 и содержащая ген устойчивости к пурамицину. Кроме того, была использована плазмидная конструкция экспрессирующая тетрациклиновый трансактиватор M2rtTA (Addgene #60843), несущая ген устойчивости к неомицину (G418). Данные плазмиды были трансфицированы в клетки и с помощью системы CRISPR-Cas9 (плаزمиды pX458-AAVS1) встроены в локус *AAVS1* линии клеток HEK293A. Затем полученная популяция клеток была селектирована по устойчивости к антибиотикам пурамицин и неомицин. Методом серийных разведений были получены 129 субклонов, которые были последовательно проанализированы методом ПЦР. Работоспособность системы подтверждена с помощью иммуногистохимического метода и Вестерн-блота.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. П. Медведев

Идентификация и функциональный анализ генов флавоноид 3', 5'-гидроксилазы ячменя

А. В. Вихорев, К. В. Стрыгина

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Растительные пигменты антоцианы представляют группу вторичных метаболитов растений, влияющих на их защитные функции и ростовые процессы. Растительная богатая антоцианами пища является источником соединений, полезных для здоровья человека и животных. В природных популяциях встречаются ячмени (*Hordeum vulgare* L.) с антоциановой окраской зерновки растения. Однако на территории страны не созданы и не возделываются сорта ячменя с окраской зерна, связанной с накоплением данных биологически активных соединений.

Одним из наименее изученных генов в пути биосинтеза антоцианов у ячменя является ген, кодирующий фермент флавоноид 3', 5'-гидроксилазу (Flavonoid 3', 5'-hydroxylase, F3'5'H). Данный ген, принадлежащий к большому семейству цитохром P450, является необходимым компонентом в пути биосинтеза антоциановых пигментов. Ранее было показано наличие у ячменя копии данного гена, тканеспецифично экспрессирующейся в алейроновом слое.

Цель данной работы — идентификация и функциональный анализ всех копий гена флавоноид 3', 5'-гидроксилазы ячменя. С помощью поиска гомологичных последовательностей с использованием программы BLAST в базах данных неаннотированных геномных последовательностей было выявлено и аннотировано четыре копии гена *F3'5'H*. Все выявленные гены имеют участок, характерный для семейства цитохром P450. Было показано, что одна из копий (*F3'5'H-3*) несет мутацию, приводящую к сдвигу рамки считывания, нарушающую функциональный домен P450. В ходе анализа *in vitro* была проверена экспрессия данных генов. Предполагается, что поддержание функций данных дублированных генов, вероятно, связано с их специализацией — все копии *F3'5'H* могут участвовать в синтезе антоциановых соединений в разных частях растения. На основе полученных данных о локализации, структурно-функциональной организации и регуляции данных генов в дальнейшем планируется разработать генетическую конструкцию для редактирования гена *F3'5'H* ячменя с помощью системы CRISPR/Cas9 с целью получения сортов с хозяйственно-ценными признаками.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. Ю. Шоева

Идентификация генов, вовлеченных в синтез меланин-подобных пигментов злаковых растений

А. Ю. Глаголева

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Семена некоторых видов растений нередко бывают окрашены черным меланин-подобным пигментом. Химическая природа данного пигмента остается неизвестной из-за его сложной полимерной структуры и устойчивости к действию растворителей. Также остается практически неизвестным, какие гены и метаболические пути вовлечены в синтез меланин-подобных пигментов. Вместе с тем известна защитная роль этих пигментов. В частности, злаки с черной окраской семян более устойчивы к действию патогенов, например, возбудителю фузариоза колоса. Для изучения генетической и биохимической природы данного признака подходящей моделью является ячмень (*Hordeum vulgare* L.), у которого наблюдается изменчивость по данному типу окраски и известна хромосомная локализация гена, контролирующего наличие пигмента.

Одним из способов идентификации генов является поиск и анализ дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ). Целью данного исследования стала идентификация ДЭГ в семенах изогенных линий ячменя — черноокрашенной BLP и неокрашенной линии Bowman — с помощью метода RNA-seq. В результате выявлено 632 гена с повышенной экспрессией в линии BLP и 325 генов с повышенной экспрессией в линии Bowman. Идентифицированы метаболические пути, ассоциированные с ДЭГ. Гены с повышенной экспрессией в линии BLP были выявлены в таких метаболических путях как биосинтез суберина, фитоалексинов, кутикулярных восков и т. д. Количество и разнообразие метаболических путей подтверждает наше ранее предположение о плейотропной природе локуса *Blp*, который помимо формирования черной окраски семян связан с противодействием окислительному стрессу (возможно, за счет повышенного содержания антиоксидантов, в том числе феруловой кислоты), а также с повышенной устойчивостью к фузариозу колоса (за счет синтеза фитоалексинов и кутикулярных восков). Черная окраска семян предположительно связана с действием фермента полифенолоксидазы (РРО).

В данной работе в том числе обсуждаются гены, участвующие в синтезе РРО, а также другие возможные гены, связанные с формированием черного пигмента.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Е. К. Хлесткина

Изучение локализации, первичной структуры и особенностей экспрессии генов, регулирующих развитие лигульного района и формирование дистально-проксимальной дифференцировки листа представителей трибы *Triticeae*

А. Е. Дресвянникова

Новосибирский государственный университет

Изучение молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе развития листа — актуальная проблема современной генетики развития, имеющая также очевидную практическую значимость.

Безлигульная линия вида *Ae. tauschii* представляет собой индуцированный мутант (*Lgt*-мутант) под контролем доминантного гена *Lgt*. С использованием 3933 полиморфных DArTseq маркеров проведено высокопроизводительное генотипирование растений популяции F₂, полученной от скрещивания *Lgt*-мутанта и образца с диким фенотипом листа KU-2126; сконструированы насыщенные маркерами молекулярно-генетические карты хромосом *Ae. tauschii*. Ген *Lgt* картирован в коротком плече хромосомы 5D в области консервативной синтении с хромосомами 5DS мягкой пшеницы, *Os12* риса, *Sb2* сорго и *Bd4* брахиподиума. *In silico* картирование на физической карте *Ae. tauschii* DArTseq маркеров, фланкирующих изучаемый ген по результатам молекулярно-генетического картирования, позволило установить область локализации *Lgt* (координаты) на псевдомолекуле 5D.

Показано, что ортологи генов *LG4*, *LGN1* и *KNOX1*, доминантные мутации которых вызывают безлигульный фенотип листа злаковых, локализованы в хромосомах 1D, 4D и 7D *Ae. tauschii* и не могут рассматриваться в качестве кандидатов на роль *Lgt*, картированном нами в 5DS. Следовательно, ген *Lgt* не является ортологом ранее изученных генов злаков *Lg4*, *Lgn1* и *Knox1* и представляет собой новый, ранее не изученный ген злаковых, участвующий в генетическом контроле развития лигульного района листа и формирования дистально-проксимальной оси дифференцировки.

Изучены особенности строения листа у линий пшеницы и ржи с безлигульным и диким фенотипом листа с использованием SEM. Показано, что паттерн формирования клеток дистальной и проксимальной частей листа не одинаков. Формирование лигульного района усиливает различия, связанные с числом и размером клеток устьиц и трихом. Обнаружено, что у растений с безлигульным фенотипом линий ANDW12A и ANDW12B наблюдается нарушение формирования лигульного района.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 16-16-10021).

Научный руководитель — канд. биол. наук О. Б. Добровольская

**Генетический контроль устойчивости растений *Solanum phureja*
к золотистой картофельной нематодe (*Globodera rostochiensis*)**

А. А. Егорова

Новосибирский государственный университет

Золотистая картофельная нематода (ЗКН) является паразитом корневой системы картофеля и некоторых других видов пасленовых. Нематоды образуют на корнях растений цисты, в которых развиваются их яйца. Больные растения характеризуются угнетенным ростом, преждевременным старением, почти не образуют клубни. Химические методы защиты являются неэффективными. Поэтому исследование генетических механизмов устойчивости картофеля к ЗКН является актуальной задачей.

В данной работе планируется провести транскриптомный анализ двух образцов одного из подвидов картофеля — *Solanum phureja*, которые характеризуются контрастной устойчивостью к ЗКН. Один из них является чувствительным к нематодe, а другой высокоустойчивым, но в то же время не несет уже известных маркеров устойчивости. Мы предполагаем, что транскриптомный анализ этих двух генотипов позволит выявить гены, участвующие в механизме защитного ответа против ЗКН.

Цель — исследовать механизмы устойчивости растений *Solanum phureja* к золотистой картофельной нематодe *Globodera rostochiensis*.

Был проведен анализ физиологического ответа на заражение нематодой у устойчивого генотипа. После 72 часов наблюдался активный гиперчувствительный ответ вокруг всего тела личинки. Для транскриптомного анализа были подготовлены образцы корней с трех растений каждого генотипа до заражения нематодой и после инокуляции с ней в течение 72 часов. Из них была выделена тотальная РНК и проведено секвенирование транскриптома на приборе Illumina NextSeq 500. Для оценки качества данных использовалась программа FastQC, фильтрация проводилась с помощью PrinSeq, картирование библиотек с помощью STAR и TopHat и выявление дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) с помощью Cufflinks. Попарное сравнение транскриптомов исследуемых образцов выявило группы ДЭГ. Проводились анализ ДЭГ на предмет наличия функциональных взаимосвязей, выделение потенциальных генов устойчивости к ЗКН и реконструирование генных сетей.

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

Оптимизация метода ДНК комет для детекции одно- и двуцепочечных разрывов на препаратах растительных клеток

Т. С. Кузина

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Для оценки генотоксических повреждений ДНК используется широкий спектр методов: молекулярно-биологические, цитологические, биохимические. Одним из самых востребованных является метод ДНК-комет, позволяющий детектировать как одноцепочечные, так и двуцепочечные повреждения.

Основным преимуществом метода ДНК-комет является его высокая чувствительность. Но на практике это оборачивается рядом недостатков: при постановке необходимо учитывать большое число факторов помимо исследуемого (например, освещение и температура в помещении), чтобы получить адекватный результат. Зачастую воспроизводимость экспериментов получается очень низкой, что вынуждает исследователей отказаться от постановки этого метода.

Нам удалось оптимизировать метод ДНК-комет для исследования генотоксических повреждений, возникающих в растительных клетках. В качестве модельного объекта выбраны проростки лука *Allium sepa*. Методика отработана как для детекции одноцепочечных повреждений, так и двуцепочечных, возникающих в результате облучения проростков гамма-излучением.

Оптимизация метода проводилась по нескольким параметрам: время проращивания семян *Allium sepa*, способ выделения ядер из проростков, нанесение выделенных ядер на стекла, pH буферного раствора при форе-зе и время его проведения, подбор красителя для визуализации ДНК-комет. Так же был определен рабочий диапазон доз гамма-излучения, в которых метод является рабочим для совместной детекции одно- и двуцепочечных повреждений ДНК.

В настоящее время проводится исследование рабочего диапазона метода ДНК-комет для выявления только двуцепочечных повреждений. В дальнейшем предполагается сравнить результаты, полученные при детекции как одно- и двуцепочечных, так и только двуцепочечных повреждений с целью получения количественного соотношения обоих типов повреждения ДНК при воздействии гамма-излучении.

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

Оценка функциональной значимости вариантов последовательности гена *GJB2*, ассоциированных с потерей слуха у коренного населения Сибири

Е. А. Маслова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Оценка функциональной значимости впервые выявленных вариантов последовательности генов, вовлеченных в патогенез моногенных заболеваний, является важной фундаментальной задачей. Наиболее частой причиной потери слуха являются мутации в гене *GJB2*, кодирующем трансмембранный белок коннексин 26 (Cx26), молекулы которого образуют межклеточные каналы для транспорта ионов. Спектр и частота *GJB2*-мутаций широко варьируют в различных популяциях. Новый вариант с.516G>C гена *GJB2* обнаружен с высокой частотой у тувинских и алтайских больных с потерей слуха (Республики Тыва и Алтай).

Целью работы является комплексная оценка патогенетической значимости нового несинонимичного варианта с.516G>C (*GJB2*), приводящего к замене триптофана на цистеин в аминокислотной позиции 172 (p.W172C) белка Cx26. Анализируемые выборки: 206 тувинских глухих пациентов и 157 несвязанных родством здоровых тувинцев. При анализе расширенных родословных глухих пациентов установлена сегрегация гомозиготного варианта p.W172C с патологией слуха, а его частота в выборке больных оказалась статистически значимо ($p < 10^{-6}$) выше (0,124), чем в контроле (0,019). В мировых базах геномных данных человека (ClinVar, dbSNP138, ESP, ExAC, 1000 Genomes Project) вариант p.W172C не обнаружен. *In silico* анализ (PolyPhen2, SIFT, MutationTaster и др.) показал вероятный повреждающий эффект p.W172C на структуру Cx26. Для исследования функциональной значимости варианта p.W172C в условиях *in vitro* собраны генетические конструкции с элементами системы CRISPR/Cas9, с помощью которых получена клеточная линия HeLa с нокаутом по гену *GJB2*. Для трансфекции в нокаутную линию HeLa созданы конструкции, кодирующие вариант с.516G>C (p.W172C) и варианты гена *GJB2* с уже известным повреждающим эффектом — с.35delG (p.Gly12Valfs), с.235delC (p.Leu79Cysfs), с.224G>A (p.R75Q), с.313_326del14 (p.Lys105Glyfs). В дальнейшем планируется провести сравнительный анализ клеточной локализации мутантных форм Cx26 и оценку проницаемости Cx26-гемиканалов. Работа поддержана грантами РФФИ (№ 18-34-00166_мол-а и № 17-29-06016_офи-м).

Научные руководители — канд. биол. наук О. Л. Посух,
канд. биол. наук К. Е. Орищенко

Функциональный анализ химерных антигенных рецепторов (CAR) против белков PSMA и PSCA

Д. А. Матвиенко

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

Современные методы иммунотерапии открывают значительные возможности для лечения различных типов онкологических заболеваний. Одним из таких методов является терапия с использованием Т- или НК-клеток, экспрессирующих химерные антигенные рецепторы (CAR). Особенно впечатляющие результаты для CAR Т-клеток были получены при терапии онкогематологических заболеваний. Однако эффективность этого подхода для терапии солидных типов рака пока невысока. Возможно, оптимизация структуры CAR позволит повысить их эффективность в борьбе с солидными типами рака.

Данная работа направлена на изучение роли шарнирного района в структуре CAR против белков-маркеров рака простаты PSMA и PSCA. Нами было получено шесть НК-клеточных линий, экспрессирующих PSMA и PSCA-специфичные CAR, с шарнирным районом, заимствованным от молекул IgG1 или CD8a, либо без шарнирного района. С помощью метода проточной цитометрии было показано, что все полученные клеточные линии экспрессируют CAR на поверхности клеток. Анализ цитотоксической активности проводили путем инкубации эффекторных клеток (CAR НК-клеток) с клетками-мишенями (клетки рака простаты человека) с последующим анализом FACS. Было обнаружено, что для PSMA-специфичных CAR структура шарнирного района ощутимо влияет на уровень цитотоксической активности клеток-эффекторов *in vitro* — наибольший цитотоксический эффект оказывают CAR-клетки без шарнирного района. Для PSCA-специфичных CAR подобного эффекта замечено не было. В настоящее время нами проводятся работы по получению первичных Т-клеток, экспрессирующих CAR против PSMA, и проверка их функциональности *in vivo* на моделях ксенотрансплантации человеческих опухолей NOD/Scid мышам.

Полученные данные могут быть полезны для создания клинически эффективных вариантов CAR для лечения рака предстательной железы.

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

Использование системы Cre-LoxP для индукции множественных хромосомных перестроек в геноме клеток человека

Р. В. Мунгалов

Новосибирский государственный университет

Одной из самых глобальных задач современной биологии является стремление узнать функциональную роль всех составляющих элементов человеческого генома. Существующих методов молекулярной и эволюционной биологии оказывается недостаточно для достижения такой цели. В данной работе нами проведены первые шаги к созданию новой скрининговой системы для выявления функциональных элементов в геноме человека. Метод основан на введении в геном множественных LoxP-сайтов с последующей индукцией хромосомных перестроек при помощи Cre-LoxP системы и далее за счет искусственной селекции, обогащения геномов клеток функциональными элементами.

Интеграция LoxP-сайтов в геном производилась с помощью лентивирусных векторов. Оценки эффективности встройки вируса в геном, проведенные с помощью количественной ПЦР позволили оценить количество интеграций LoxP-сайта в среднем на клетку, что составило ~50 событий в масштабах всего генома. Мы также показали, что концентрирование вирусов позволяет значительно увеличить количество провирусных интеграций.

В качестве системы для направленной селекции клеток на уменьшение контента ДНК мы использовали прижизненный краситель Vybrant DyeCycle, который позволяет окрашивать ДНК клеток и отсортировывать ту часть популяции, у которой геном был редуцирован. Однако тестовые эксперименты с красителем показали его способность детектировать лишь существенную разницу в количестве ДНК, соизмеримую с плоидностью клеток, но не хромосомные делеции. На данный момент ведется разработка альтернативной системы селекции клеток на предмет их обогащения функциональными элементами посредством Cre-LoxP системы.

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

**Разработка системы коррекции однонуклеотидной замены
с.840 C>T в 7 экзоне гена SMN2**

В. С. Овечкина

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

Однонуклеотидные замены в кодирующих участках генов являются распространенной причиной многих наследственных заболеваний. В случае спинальной мышечной атрофии (СМА) замена с.840 C>T в 7 экзоне гена *SMN2* приводит к нарушению сплайсинга и вырезанию данного экзона из большей части (до 90 %) транскриптов. Коррекция сплайсинга путем обратной замены T → C является перспективным подходом для разработки методов лечения данного заболевания.

Целью работы является создание молекулярно-генетических инструментов на основе системы CRISPR/Cas9 для коррекции замены с.840 C>T в 7 экзоне гена *SMN2* и их тестирование на линии фибробластов, полученных от пациента со СМА.

На основании биоинформатического анализа было выбрано три потенциальных мишени (T1-3) для системы CRISPR/Cas9. Эффективность внесения двуцепочечных разрывов каждой из трех систем в фибробласты пациента со СМА была проанализирована с помощью программного обеспечения TIDE. Показано, что наименьшее количество инсерций / делеций ($10,1 \pm 2,1$ %) наблюдается при работе системы T1, наибольшее ($17,9 \pm 3,7$ %) — при работе системы T2. Система T3 показала промежуточное значение эффективности — $12,1 \pm 1,9$ %. При анализе нецелевых эффектов с помощью программного обеспечения COSMID было показано, что наименьшее количество потенциальных нецелевых сайтов имеет протоспейсер T1, наибольшее — T3. Однако наиболее вероятные сайты нецелевой активности находятся в некодирующих участках генов. Таким образом, по результатам анализа целевой и нецелевой активности для дальнейшей работы по коррекции замены с.840 C>T в 7 экзоне гена *SMN2* была выбрана система T2.

Исследование проведено при поддержке гранта РФФИ № 17-75-10041.

Научный руководитель — канд. биол. наук К. Р. Валетдинова

Нарушение процесса инактивации X-хромосомы в фибробластоподобных гибридных клетках

К. О. Петрова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Инактивация X-хромосомы представляет собой удивительный пример широкомасштабного формирования гетерохроматина, начинающегося на ранних этапах эмбрионального развития и являющегося комплексным молекулярно-генетическим процессом, точный механизм которого остается пока неясным. Установлено, что функционально активной должна оставаться только одна X-хромосома на диплоидный геном, остальные X-хромосомы становятся мишенью для инактивации. Однако сотрудники лаборатории генетики развития ИЦиГ СО РАН обнаружили наличие транскрипта длинной некодирующей РНК *Xist*, запускающего процесс инактивации X-хромосомы, и неактивную X-хромосому в околотетраплоидных фибробластоподобных гибридных клетках (XXY0), полученных слиянием эмбриональных стволовых (ЭС) клеток (XY) с фибробластами (X0) [1]. Это является уникальным случаем нарушения правила, гласящего: одна активная X-хромосома на диплоидный набор аутосом.

Целью работы является выявление причин нарушения процесса инактивации X-хромосомы в фибробластоподобных гибридных клетках, полученных слиянием ЭС клеток и фибробластов.

Анализ транскриптомных данных с использованием метода главных компонент показал, что в пространстве первых двух компонент ЭС-подобные гибриды и ЭС клетки расположены близко друг к другу, в то время как фибробластоподобные гибридные клетки отличаются от фибробластов. Проведено сравнение транскриптомов перевивных фибробластов и фибробластоподобных гибридных клеток. Проанализирован список дифференциально экспрессирующихся генов. Кроме этого, нами была обнаружена активация экспрессии гена *Xist* в XY ЭС клетках под воздействием нарушающих синтез ДНК и белков агентов. Вероятно, эта активация сопровождается дифференцировку клеток.

1. Matveeva, N. M., et al., Alternative dominance of the parental genomes in hybrid cells generated through the fusion of mouse embryonic stem cells with fibroblasts // Sci Rep, 2017. V. 7(1). P. 180–194.

Научные руководители — канд. биол. наук Н. Р. Баттулин,
канд. биол. наук М. М. Гридина

Популяционная генетика осетровых Сибири

М. А. Побединцева

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

Осетрообразные (*Acipenseriformes*) — древнейший отряд класса Лучеперых рыб, в реках Сибири представлен стерлядью (*Acipenser ruthenus*) и сибирским осетром (*A. baerii*). Осетровые чрезвычайно уязвимы к воздействию разнообразных факторов, препятствующих их естественному воспроизводству. По всей стране проводятся различные рыбоохранные мероприятия, направленные на восстановление популяций. Но вопрос о том, какой эффект на естественные популяции они оказывают и какую экономическую пользу приносят, остается открытым.

В настоящее время филогения осетровых остается противоречивой, существуют проблемы с идентификацией отдельных видов, а также поднимаются вопросы о выделении подвидов внутри вида.

Целью нашей работы является оценка генетического разнообразия стерляди и сибирского осетра в реках Сибири по последовательности контрольного района митохондриальной ДНК, а также выяснение филогенетических отношений между основными гаплогруппами обоих видов, основанное на анализе полных митохондриальных геномов.

Секвенированием по Сэнгеру были получены последовательности контрольного района митохондриальной ДНК. Их анализ и сравнение с опубликованными ранее данными позволили выявить в исследованных выборках 98 и 61 гаплотипов соответственно. С помощью филогенетического анализа было выделено 12 основных гаплогрупп стерляди и всего две гаплогруппы сибирского осетра, представленных с разной частотой в разных районах. Для представителей основных гаплогрупп стерляди и сибирского осетра, а также шипа (*A. nudiventris*) было проведено секвенирование на платформе Illumina MiSeq и сборка полных митохондриальных геномов. На основании полученных нами данных, с использованием ранее опубликованных последовательностей митохондриальных геномов мы построили филогенетическое древо и рассчитали времена дивергенции основных гаплогрупп.

Изучение разнообразия митохондриальных гаплотипов обоих видов показало значительные межрегиональные отличия, что свидетельствует о сложной структуре популяций. Нами установлено, что популяции разных рек изолированы. Кроме того, как для стерляди, так и для сибирского осетра наблюдается снижение генетического разнообразия в восточных реках.

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

Структура генофонда мтДНК и Y-хромосомы носителей окуневской культуры Минусинской котловины (II тыс. до н. э.)

М. С. Пристяжнюк

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Окуневская культура существовала на территории Минусинской котловины (Хакасия) во II тыс. до н. э. в эпоху развитой бронзы. Ее формирование происходило при взаимодействии автохтонных групп населения региона и пришлых носителей афанасьевской культуры. Хотя окуневская культура хорошо изучена с точки зрения археологии, процессы формирования генетического состава ее носителей до сих пор остаются неясными. Цель данной работы — оценка структуры генофонда населения окуневской культуры на основе данных о разнообразии вариантов мтДНК и Y-хромосомы ее носителей из археологических памятников с территории Минусинской котловины.

Выборка палеоантропологических образцов от 34 носителей окуневской культуры была сформирована из коллекций ИАЭТ СО РАН. Исследование выполнено на базе межинститутского сектора молекулярной палеогенетики ИЦиГ СО РАН.

Для 29 индивидов были определены последовательности ГВС1 мтДНК и статус информативных позиций в кодирующей части мтДНК. Для 11 индивидов мужского пола определены полные или частичные аллельные профили 17 STR локусов Y-хромосомы.

В исследованной серии были обнаружены варианты западно-евразийских (H, U2e, U4, U5a1) и восточно-евразийских (A8, A11, C, C5) гаплогрупп мтДНК и варианты Y-хромосомы, относящиеся к Q и R1b гаплогруппам. Присутствие в генофонде филогенетических и филогеографических контрастных вариантов мтДНК свидетельствует о смешанном происхождении окуневского населения. Выявлены потенциально автохтонные (гаплогруппы мтДНК A8, A11, C5; гаплогруппа Q Y-хромосомы) и пришлые (подкластеры гаплогруппы H мтДНК; гаплогруппа R1b Y-хромосомы) компоненты генофонда, маркирующие вклад предшествующих популяций Южной Сибири и мигрантов в формирование генетического состава окуневского населения.

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

Изучение характера передачи хромосомы пырея 6Ai в сорта мягкой пшеницы

К. К. Розенфрид, Е. А. Володина, А. В. Стасюк
Новосибирский государственный аграрный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Пырей *Thinopyrum intermedium* (Host) является источником агрономически ценных признаков в селекции мягкой пшеницы. С использованием пшенично-пырейной замещенной линии Agis 1 созданы сорта яровой мягкой пшеницы Тулайковская 5 и Тулайковская 10. В геноме сорта Тулайковская 10 хромосома пшеницы 6D замещена хромосомой пырея 6Ai, которая несет гены устойчивости к грибным заболеваниям, обеспечивающие иммунитет растениям в различных эколого-географических зонах.

Целью данной работы было изучить характер передачи хромосомы пырея *Th. intermedium* 6Ai в другие сорта пшеницы для создания линий с пшенично-пырейной транслокацией.

В работе были использованы три сорта пшеницы: Саратовская 29 (C29), Новосибирская 15 (H15) и Тулайковская 10 (T10). Проанализирован мейоз гибридов F_1 C29xT10, T10xC29, H15xT10. В мейозе происходили центрические разрывы хромосом 6Ai и 6D, на основании чего сделан прогноз о наличии телоцентриков хромосомы 6Ai в F_2 поколении. По данным ПЦР анализа геномной ДНК, хромосома 6Ai была обнаружена у 42,3 % растений F_2 C29xT10, длинное плечо 6AiL — у 2,88 %, короткое плечо 6AiS — у 2,88%. Среди растений F_2 T10xC29 26,7 % имели оба плеча хромосомы 6Ai, 31,1 % — короткое плечо 6AiS. В потомстве F_2 H15xT10 хромосома 6Ai идентифицирована у 46,87 % растений, длинное плечо хромосомы 6Ai обнаружено у 26,04 %, а короткое плечо 6AiS — у 4,14 % растений.

Таким образом, на частоты и характер передачи хромосомы 6Ai влияют как генотип сорта реципиента, так и использование T10 в качестве материнской формы. В итоге в F_2 гибридов C29xT10 отобраны шесть растений с телоцентриками 6AiS или 6AiL, в F_2 гибридов T10xC29 — 14 растений с 6AiS и в F_2 гибридов H15xT10 — 29 растений с телоцентриками 6AiS или 6AiL.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. Г. Силкова

**Исследование реорганизации архитектуры генома
в ходе терминальной дифференцировки эритробластов мыши**

А. С. Рыжкова

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Геном в ядре упакован некоторым неслучайным образом, что обеспечивает динамический контакт определенных элементов генома между собой, необходимый для осуществления транскрипционного контроля. Развитие методов, основанных на технологии захвата конформации хромосом, позволило установить такие свойства геномной организации, как компартиментализация, наличие топологически ассоциированных доменов (ТАДов) и петель на их границах, а также падение частоты хроматиновых контактов с увеличением геномного расстояния. Интересно, что структура ТАДов считается стабильной в различных типах клеток и консервативной среди описанных видов. Об этом говорит анализ распределения генетического материала в инвертированных ядрах палочек, транскрипционно неактивных ядрах сперматозоидов, в пронуклеусах, а также динамика его перераспределения в ходе дифференцировки. При этом недавно выполненный анализ пространственной структуры хроматина фибробластов и эритроцитов курицы выявил масштабную реорганизацию доменов в ядрах эритроцитов, что расходится с имеющимися данными о высокой консервативности ТАДов и говорит о необходимости расширения нашего понимания принципов, формирующих трехмерную архитектуру ядра. Получение данных о пространственных контактах в ядрах эритробластов другого модельного организма позволит составить более точную картину закономерностей распределения генетического материала.

Целью настоящей работы является сравнительный анализ топологии хроматина на различных стадиях дифференцировки эритробластов мыши.

В ходе исследования была подготовлена Hi-C библиотека и получены карты пространственных контактов хроматина эритробластов мыши на терминальной стадии дифференцировки. Сравнительный анализ показал нетипичную картину распределения хроматиновых контактов — так, геном в ядрах эритробластов отличается высокой степенью компартиментализации.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. Р. Баттулин

Увеличение эффективности внесения крупномасштабных геномных делеций за счет направленного ремоделинга архитектуры хроматина

П. А. Сальников

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Методы направленного редактирования генома являются незаменимыми для целого ряда исследований. Несмотря на революционно высокую эффективность недавно появившихся CRISPR/Cas9 технологий, в области геномного редактирования все еще существует ряд нерешенных проблем. Работа посвящена решению одной из таких проблем, а именно улучшению методов создания крупномасштабных (порядка сотен тысяч пар оснований) хромосомных перестроек, делеций или инверсий.

Наиболее продвинутый метод создания хромосомных перестроек основан на внесении двух двухцепочечных разрывов при помощи системы CRISPR/Cas9. Последующее соединение концов разрывов с формированием желаемой хромосомной перестройки осуществляется клеточной машиной репарации, причем скорость и специфичность этого процесса зависит в том числе и от расстояния между локусами в пространстве ядра.

В нашей работе исследована возможность влияния на вероятность перестройки — делеции, между двумя локусами за счет изменения расстояния между ними при помощи системы CLoUD9 [1]. Мы ожидаем, что при внесении двуцепочечных разрывов в сближенные локусы частоты возникновения делеций между ними будет выше, чем в условиях нормальной архитектурой хроматина ядра.

Мы заклонировали вектора, обеспечивающие экспрессию систем CLoUD9 и CRISPR/Cas9 в эукариотических клетках. В качестве теста были успешно получены целевые делеции размером 150, 200 и 300 т. п. н., что доказывает эффективность нашей схемы.

1. *Morgan S. L. et al. Manipulation of nuclear architecture through CRISPR-mediated chromosomal looping // Nat. Commun. 2017. V. 8. № May. P. 15993.*

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

**Исследование полиморфизмов генов системы гемостаза
и фолатного цикла у женщин, обратившихся
за медико-генетическим консультированием.**

С. А. Семенова

Медицинский институт Северо-Восточного Федерального
университета им. М. К. Аммосова, г. Якутск

Цель исследования — изучить носительство полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного цикла среди женщин, обратившихся в МГЦ ГАУ РС(Я) «РБ№1-НЦМ».

Исследование проведено по материалам МГЦ ГАУ РС (Я) «РБ№1-НЦМ» среди женщин якутской этнической группы ($n = 105$) коммерческими наборами «РеалБест-Генетика Гемостаз (12)» методом ПЦР в режиме реального времени. Были изучены следующие полиморфизмы: F2:20210 G/A, F5:1694 G/A, F7:10976G/A, F13A1:c.103 G/T, FGB:-455 G/A, ITGA2:807 C/T, ITGB3:Gp3a, PAI-1:-675 4G, MTR:2756 A/G, MTRR:66 A/G, MTHFR:677 C/T, MTHFR:1298 A/C.

Причинами исследования были невынашивание беременности и бесплодие — 21,9 %, отягощенный анамнез по ВПР у плода, нарушения свертывания и т. д. — остальные случаи. Среди генов гемостаза наиболее распространен полиморфизм PAI-1 675: 43,1 % гетерозигот и 49,2 % гомозигот из 65 исследованных. Мутантных аллелей F5 1691 фактора V-Лейден не найдено, а по полиморфизму F2 20210 обнаружен один носитель (0,9 % гетерозигот) из 105, в то время как в мировой популяции F5 — 3–7% и F2 — 1–3% [1; 3]. Однако мутантные аллели этих двух генов редко встречаются среди населения азиатских стран [3; 4].

По генам фолатного цикла наибольшая частота встречаемости у MTHFR 1298 (47,4 % гетерозигот и 10,3 % гомозигот) и MTRR 66 (49,5 % гетерозигот и 10,3 % гомозигот) из 97. Гомозигот гена MTHFR 677 не выявлено, но гетерозиготы составили 84,8 % из 33. MTR 2756 встречается реже — 2,8 % гомозигот и 27,6 % гетерозигот из 105. К примеру, в популяции девочек г. Барнаула наиболее распространен MTRR 66 (40,2 % гомозигот и 49,5 % гетерозигот), наименее — MTHFR 1298 (7,7 % гомозигот, 40,8 % гетерозигот) [2].

По результатам исследования на носительство патологических аллелей генов гемостаза и фолатного цикла выяснено, что их распределение среди женщин якутского этноса отличается от их распространенности в мировой популяции. Для более полной картины необходимо собрать данные о носительстве генов гемостаза и фолатного цикла среди здоровой популяции.

1. Бокарев И. Н., Попова Л. В. Что такое тромбофилии сегодня? // Клиническая медицина. 2013. № 12. С. 4–8.

2. Строзенко Л. А., Гордеев В. В., Лобанов Ю. Ф. и др. Распределение генов фолатного цикла в популяции подростков г. Барнаула Алтайского края // МиД. 2015. № 1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/raspredelenie-genov-folatnogo-tsikla-v-populyatsii-podrostkov-g-barnaula-altayskogo-kрая>.

3. Khan S., Dickerman J. D. Thrombosis // Journal BioMed Central Ltd. 2006. URL: <https://doi.org/10.1186/1477-9560-4-1>.

4. Yeon S. et al. The Prevalence and Clinical Manifestation of Hereditary Thrombophilia in Korean Patients with Unprovoked Venous Thromboembolisms // Ed. Toshiyuki Miyata. 2017. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5645010/>.

Научные руководители — канд. мед. наук А. Л. Сухомясова,
канд. мед. наук П. И. Гурьева

**Получение генетически-модифицированной линии плюрипотентных
стволовых клеток человека, экспрессирующей HIF-фактор,
индуцируемый гипоксией**

А. М. Смирнова, М. К. Живень

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК) — модельный объект, который позволяет получить любые клетки взрослого организма. Переход от состояния нормоксии к состоянию гипоксии влияет на плюрипотентность и дифференцировку ПСК, вызывает изменения в экспрессии генов. Клеточные ответы на гипоксию в основном регулируются с помощью активации транскрипционных факторов, индуцируемых гипоксией (HIF). Активируемые HIF сигнальные каскады вовлечены в процессы развития, метаболизма, реакции воспаления и ряд других физиологических процессов, в том числе играют ключевую роль в регуляции ангиогенеза. В настоящее время модуляция HIF-пути является перспективной терапевтической стратегией для управления различными заболеваниями.

В нашей работе для модуляции экспрессии HIF в ПСК человека мы применили метод CRISPR/Cas9 для целевого выключения *INT6* — ингибитора HIF-2 α . Это позволит стабилизировать HIF-2 α в условиях нормоксии. Чтобы произвести сайленсинг *INT6*, мы выбрали две направляющие РНК на ген *INT6* таким образом, чтобы делеция составляла 200 п. н. и включала участок промотора и начало первого экзона. Полученные генетические конструкции доставили в ПСК человека с помощью нуклеофекции. Наличие требуемой делеции в полученных субклонах ПСК подтвердили секвенированием. По результатам количественной ПЦР в режиме реального времени уровень экспрессии *INT6*/eIF3 в генетически-модифицированных субклонах достоверно снижен более чем в три раза. При этом уровень экспрессии HIF-2 α достоверно повышен по сравнению с контрольной линией ИПСК. Наличие белков HIF-1 α , HIF-2 α подтвердили с помощью Вестерн-блоттинга. Полученные генетически-модифицированные ПСК будут использованы для исследования влияния активации HIF-2 α в нормоксических условиях на ангиогенные свойства их эндотелиальных производных.

Научный руководитель — канд. биол. наук И. С. Захарова

Поиск мутаций в генах *LEP* и *MC4R* у больных ожирением третьей степени

К. В. Субботина

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

Ожирением называют избыточное отложение жира в подкожной жировой клетчатке и других тканях организма, связанное с нарушением обмена веществ, требующее длительного медицинского лечения и наблюдения, направленных на стабильное снижение массы тела, уменьшение частоты сопутствующих заболеваний и смертности.

Ожирение — глобальная проблема, которая затрагивает все большее число людей, это фактор риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, некоторых видов рака, заболеваний пищеварительной системы, органов дыхания и суставов. Генетика играет фундаментальную роль в развитии ожирения. Гены лептин-меланокортиновой системы, участвующей в контроле аппетита, являются одним из ключевых звеньев регуляции обмена веществ. При их повреждении происходит ранняя манифестация тяжелого ожирения. Полная инактивация пяти генов — *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *PCSK1* и *MC4R* сопровождается выраженной гиперфагией и ранним началом выраженного ожирения у людей.

Целью этой работы является поиск мутаций в генах *LEP* и *MC4R* у жителей Новосибирской области с индексом массы тела больше 45 (норма 18,5–25).

Исследования проводились на ДНК 12 людей, страдающих ожирением, у которых среднее значение индекса массы тела равнялось 51. Выбирались пациенты, имеющие высокую степень ожирения с ИМТ в пределах 45–62. Среди пациентов преимущественно были женщины, а именно: девять женщин и трое мужчин. Проводили ПЦР для наработки фрагментов генов *LEP* и *MC4R* и дальнейшее секвенирование. В результате проделанной работы мутации не были обнаружены.

В результате проделанной работы нами не было обнаружено мутаций в генах *LEP* и *MC4R* у 12 жителей Новосибирской области с индексом массы тела больше 45. Это говорит о том, что либо у данных людей к развитию ожирения привели мутации в других генах (*LEPR*, *POMC*, *PCSK1*), либо основными причинами являются факторы окружающей среды, такие как отсутствие физических нагрузок и несбалансированное высококалорийное питание.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Е. Н. Воронина

**Направленная дифференцировка индуцированных плюрипотентных
стволовых клеток человека в срединные шипиковые нейроны
для создания клеточной модели болезни Хантингтона**

А. А. Сурумбаева, Т. Б. Маланханова
Новосибирский государственный университет

Направленная дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека в узкоспециализированные типы нейронов дает возможность изучать *in vitro* молекулярные механизмы развития нейродегенеративных заболеваний, а также использовать дифференцированные нейроны для тестирования различных химических соединений, являющихся потенциальными лекарственными препаратами. Однако стоит отметить, что направленная дифференцировка ИПСК в узкоспециализированные типы клеток для моделирования заболевания является очень долгим, затратным и трудоемким процессом.

Болезнь Хантингтона характеризуется гибелью главным образом срединных шипиковых нейронов (СШН), которые составляют 95 % от общей популяции нейронов стриатума. В данной работе разработан протокол направленной дифференцировки ИПСК в СШН с возможностью продолжительного культивирования клеток на стадии предшественников СШН, которые успешно проходят процедуры криоконсервации, а также обладают высокой пролиферативной активностью. Кроме того, предшественники нейронов могут стать удобным объектом для различных генетических манипуляций с помощью системы редактирования генов CRISPR/Cas9, таких как трансгенез или направленная активация исследуемых генов. Важным преимуществом этих клеток является то, что после этих манипуляций можно в один этап дифференцировать их в нейроны и, таким образом, наблюдать эффект генетических манипуляций уже на релевантных клетках, которые могут быть использованы для изучения молекулярных основ развития БХ, поиска мишеней для лекарственных препаратов и других способов коррекции данного заболевания.

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

**Эндосимбиотические бактерии *Wolbachia*
в сибирских популяциях *Acrididae* (Orthoptera)**

А. Ю. Тихомирова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Wolbachia — род матерински наследуемых симбиотических бактерий многих членистоногих и нематод. По оценкам инфицированность *Wolbachia* охватывает более 50 % видового разнообразия насекомых. Однако некоторые таксоны насекомых в отношении *Wolbachia* остаются малоизученными, например, семейство настоящие саранчовые (Acrididae). В данной работе мы оцениваем встречаемость *Wolbachia* в сибирских популяциях саранчовых и впервые даем подробное генетическое описание выявленных штаммов.

Материал коллекции собран в четырех регионах Российской Федерации: Новосибирская область, Иркутская область, Алтайский край, Республика Алтай. Коллекция представлена 14 видами, которые относятся к семи родам: *Arcyptera*, *Bryodema*, *Chorthippus*, *Gomphocerippus*, *Oedaleus*, *Omocestus*, *Stauroderus* и насчитывает 316 образцов. Выделение ДНК проводили стандартным методом с модификациями. Проверку качества ДНК проводили с помощью универсальных праймеров к ядерному гену *28S rRNA* и митохондриальному гену *co2* насекомых. Для установления статуса инфицированности использовали праймеры к генам *Wolbachia* — *coxA*, *wsp*. Для определения генетического разнообразия бактерии мы проводили мультилокусное генотипирование изолятов по пяти генам (*coxA*, *fbpA*, *ftsZ*, *hcpA*, *gatB*). Бактерия *Wolbachia* обнаружена у представителей всех семи изученных родов семейства Acrididae. В докладе обсуждаются филогенетические связи выявленных гаплотипов бактерии с ранее описанными вариантами *Wolbachia* и возможная роль симбионта у видов настоящих саранчовых.

Научный руководитель — канд. биол. наук Ю. Ю. Илинский

**Поиск генов, обеспечивающих влияние ауксина на биосинтез
и сигнальный путь этилена у *Arabidopsis thaliana* L.**

Е. В. Убогоева

Новосибирский государственный университет

Фитогормоны ауксин и этилен являются важнейшими регуляторами процессов роста и развития растений и активно применяются в сельском хозяйстве. Для обоих гормонов характерен широкий спектр различных физиологических эффектов. Биосинтез, транспорт и сигнальные пути ауксина и этилена хорошо изучены по отдельности. В регуляции многих физиологических процессов существенную роль играет взаимодействие этих фитогормонов. Ауксин является важнейшим морфогеном, и многие фенотипические ответы этилена достигаются за счет изменения количества и распределения ауксина. При этом влияние ауксина на метаболизм и передачу сигнала этилена мало изучено. Следовательно, изучение влияния ауксина на сигнальный путь этилена является актуальной задачей. Цель исследования — поиск генов, которые обеспечивают влияние ауксина на биосинтез и сигнальный путь этилена.

На основании функциональной аннотации собственных данных секвенирования ауксин-индуцированных транскриптомов корня *A.thaliana*, а также публично доступных данных микрочип-экспериментов, выявлено 119 генов биосинтеза, сигнального пути и ответа на этилен, чувствительных к действию ауксина. Изменение уровня экспрессии этих генов под действием ауксина было избирательно подтверждено с помощью ОТ-ПЦР. Ауксин-чувствительность некоторых генов показана впервые. Более детальный анализ ауксин-зависимой экспрессии генов АЦК-синтаз, ферментов биосинтеза этилена выявил различие профилей их экспрессии в зависимости от концентрации ауксина. На основании полученных данных предложена схема ауксин-зависимой регуляции биосинтеза этилена.

Для гена *EIL2*, паралога основного регулятора транскрипционного ответа на этилен, гена *EIN3* чувствительность к ауксину показана впервые. На основании анализа паттернов экспрессии *EIL2* и распределения ауксина в различных органах растения предложена схема взаимодействия сигнальных путей ауксина и этилена на уровне регуляции транскрипционного ответа.

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

Эволюционные преобразования X-хромосом у полевок (*Arvicolinae*, *Rodentia*)

Ю. Е. Федорова

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

Внутрихромосомные перестройки, как показывают последние исследования, более частотны, чем межхромосомные, особенно в быстро эволюционирующих таксонах. К настоящему времени значительное их число выявлено у приматов и китопарнокопытных, однако полевок — наиболее богатая видами и быстро эволюционирующая группа млекопитающих — в этом отношении практически не исследованы. Анализ аутосом полевок показал, что в эволюции по крайней мере трех предковых аутосомных консервативных сегмента подверглись значительной реорганизации за счет пара- и перичентрических инверсий и центромерных шифтов. Аналогичный анализ X-хромосом был проведен лишь для пяти видов из рода *Microtus*.

Мы исследовали X-хромосомы 14 видов полевок, относящихся к разным трибам, при помощи метода FISH и реконструировали возможные эволюционные пути их формирования. В качестве зондов для гибридизации использовали набор микродиссекционных ДНК-проб X-хромосомы *Terricola savii*. Из вовлеченных в исследование видов лишь четыре (*Terricola daghestanicus*, *Alexandromys evoronensis*, *Lasiopodomys gregalis*, *Microtus arvalis*) сохраняют консервативность относительно X-хромосомы *Terricola savii*, у остальных выявлены сдвиги центромер и пара- и перичентрические инверсии. При этом если в случае аутосом представители базальных ветвей, в отличие от представителей трибы *Microtini*, демонстрировали структуру консервативных сегментов, близкую к предковой, то X-хромосомы современных представителей базальных ветвей, особенно *Myodini*, подверглись существенной реорганизации.

Полученные результаты позволяют предположить, что дальнейшее изучение кариотипов подсемейства с вовлечением большего числа представителей для получения полной картины эволюционных преобразований покажет более высокую скорость фиксации внутрихромосомных перестроек в половых хромосомах, чем аутосомах полевок.

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

Исследование эффективности работы системы CRISPR/Cas9 в суспензионной культуре клеток *Arabidopsis thaliana*

С. А. Хозеева

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Системы экспрессии, основанные на суспензионных культурах клеток растений, являются чрезвычайно перспективными, поскольку сочетают достоинства эукариотической системы биосинтеза белка с простотой и дешевизной бактериальной. Растительные клетки в состоянии осуществлять большинство посттрансляционных модификаций белков, свойственных белкам животных. При этом они не содержат животных патогенов. Использование системы CRISPR/Cas9 в данной системе экспрессии является перспективной в биотехнологии для повышения уровня экспрессии белков, гуманизации белков и др.

В настоящей работе была использована суспензионная культура трансгенных клеток *Arabidopsis thaliana* с внедренным геном *gfp*. Для нокаута целевого гена *gfp* была создана конструкция Cas9GFP (несущая гены эндонуклеазы *cas9* и gRNA). В качестве способа доставки ДНК была выбрана агробактериальная трансформация. Было проведено 16 агробактериальных трансформаций 7 независимых клеточных линий *A. thaliana*, в ходе которых было получено 90 каллусных линий, из которых 64 были проанализированы на наличие сайт-специфической мутации при помощи рестрикционного анализа ПЦР-фрагмента целевого гена. В методике агробактериальной трансформации были выявлены трудности при отборе трансформированных каллусов. В результате нами дополнительно был использован второй метод доставки ДНК — биобаллистический. Методом биобаллистики было проведено 36 трансформаций, в результате было получено 10 каллусных линий, растущих на селективной среде. Полученные каллусные линии были также проанализированы на наличие нокаута гена *gfp*. Среди проанализированных 66 каллусов было выявлено 14 (21 %) каллусных линий с сайт-специфической мутацией. Согласно оценке ростовых характеристик были отобраны каллусные линии, характеризующиеся наибольшей пролиферативной активностью с целью дальнейшего получения моноклональных трансгенных линий суспензионных клеток *A. thaliana*.

Научный руководитель — канд. биол. наук Н. В. Пермякова

**Изменчивость соотношения амилоза / амилопектин
и препаративного выхода клубневого крахмала *S. tuberosum***

Ю. А. Хорошавин

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Крахмал — важное сырье органического происхождения, легкодоступное в промышленных масштабах для хозяйственной деятельности человека. Оптимальный набор физико-химических свойств крахмала, зависящий от содержания и строения составляющих его полисахаридов амилозы и амилопектина, значительно варьирует для разных областей применения. Содержание и строение молекул этих двух полисахаридов регулируются генами их биосинтеза и могут рассматриваться как фенотипические признаки, по которым возможна селекция растений картофеля. На сегодняшний день многие из этих генов известны, однако связь их аллельных вариантов, а также локусов с еще не описанными генами и физико-химических характеристик крахмала требует более глубокого изучения. Также для высокотехнологичной селекции представляет интерес фенотипирование российских сортов картофеля по биохимическим показателям крахмала.

Цель данного исследования — анализ изменчивости свойств картофельного крахмала и нахождение ассоциаций «локус — признак», что в дальнейшем позволит идентифицировать маркеры соответствующих генов.

Исследование проводится на 92 сортах картофеля из коллекции «ГенАгро» (ФИЦ ИГиГ СО РАН). Вскоре после уборки из отобранных клубней были выделены крахмал и ДНК. Образцы ДНК отправлены на гибридизацию на чипе Illumina для дальнейшего использования в полногеномном анализе ассоциаций «геном — признак» (GWAS). Для всех сортов определен препаративный выход крахмала. Была разработана новая методика определения содержания амилозы в крахмале, после чего этот признак был измерен у значительной части сортов и гибридов. Выявлены контрастные по содержанию амилозы формы (от 14 % до 34 %).

Работа по разработке метода и определению содержания амилозы в крахмале картофеля российской селекции проводится при финансовой поддержке гранта РФФИ-НСО (проект № 17-44-540510).

Научный руководитель — канд. хим. наук В. К. Хлесткин

Функции септинов *Drosophila melanogaster* в клеточном делении

А. С. Хрущева

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Септины — высококонсервативные ГТФазные белки, найденные у всех эукариот, кроме высших растений. Количество генов септинов варьирует в организмах от двух у *Caenorhabditis elegans* (UNC-59 и UNC-61) до 13 у человека (*Sept1–Sept14*). Эволюция группы этих генов шла путем дупликации предкового гена, что в дальнейшем привело к дивергенции генов, и, как следствие, к дивергенции их функций. По гомологии последовательности аминокислот септины разделяют на четыре класса. Функциональной формой является гетеромерный белковый комплекс, состоящий из трех или четырех пар белков различных классов. Известно, что у млекопитающих септины одного класса могут заменять друг друга внутри комплекса. У *Drosophila melanogaster* было найдено пять септинов: Pnut (Pnut), Sep1, Sep2, Sep4 и Sep5, три из которых образуют белковый комплекс Pnut-Sep2-Sep1-Sep1-Sep2-Pnut. Функции *Sept4* на сегодняшний день практически не изучены, *Sept5* является яичник-специфичным.

В данной работе был проведен анализ деления нейробластов личинок дрозофилы при эктопическом подавлении экспрессии каждого из септинов с помощью РНК-интерференции, запускаемой повсеместным драйвером *tub-Gal4*. Анализ распределения клеток по стадиям митоза в линиях с РНК-интерференцией по всем септинам показал накопление клеток на стадии прометафазы, что хорошо коррелирует с обнаруженным нарушением конденсации хромосом. Также повышенная частота встречаемости клеток наблюдалась на стадии анафазы. При этом нарушения сегрегации хромосом, цитокинеза и других аномалий митоза не было выявлено. Удивительно, что нокдаун по *Sept5*, специфическому для яичников, также приводит к задержкам на стадиях прометафазы и анафазы, что предполагает его участие в делении клеток нервных ганглиев дрозофилы.

Таким образом, в данной работе было показано, что все септины *Dr. melanogaster* участвуют в делении клеток нервных ганглиев. Фенотипические нарушения совпадают для септинов различных классов (*Sept1*, *Sept4* и *Sept2*, *Sept5*), что позволяет сделать предположение о существовании в клетках нервных ганглиев дрозофилы септиновых комплексов, альтернативных известному гетеромеру Pnut-Sep2-Sep1-Sep1-Sep2-Pnut.

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

Создание модельной системы для исследования интерактома альфа-синуклеина в патогенезе болезни Паркинсона

Д. В. Шарипова, В. Р. Коваленко
Новосибирский государственный университет

Болезнь Паркинсона (БП) — нейродегенеративное расстройство, относящееся к группе синуклеинопатий — заболеваний, в основе патологического процесса которых лежит нарушение структуры белка альфа-синуклеина. До сих пор доподлинно неизвестен конкретный механизм его патологического воздействия на жизнеспособность нейронов головного мозга. Именно поэтому необходима разработка экспериментальных систем для выяснения паттерна взаимодействия альфа-синуклеина с различными белками и структурами в нейронах человека.

Цель работы — создание клеточной платформы для изучения межмолекулярных взаимодействий альфа-синуклеина. Для исследования были получены мононуклеары крови 50 пациентов, страдающих БП, проведено секвенирование их экзомов. Клетки одного пациента, имеющего патологическую мутацию, связанную с развитием БП, были выбраны для дальнейшей работы.

В ходе работы был разработан протокол получения пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) с помощью эписомного репрограммирования. Генно-инженерными методами были собраны плазмидные конструкции, предназначенные для изучения интерактома альфа-синуклеина *in vitro*. Эти конструкции кодируют ген альфа-синуклеина с двумя вариантами эпитопов на N- или C-конце будущего белка: 3xFLAG или 3xFLAG + 2xStrep-Tag II (всего четыре конструкции). Встройка трансгена будет осуществляться с помощью системы редактирования генома CRISPR/Cas9 в локус *AATSI*. Уже подобран способ и условия трансфекции, необходимые для получения трансгенных линий клеток; получены предварительные клеточные клоны, ведется их анализ. Также, работоспособность предложенной системы подтверждена на клетках линии HEK293A с помощью вестерн-блот анализа.

Полученные в ходе работы трансгенные пациент-специфичные ИПСК будут использованы для изучения интерактома альфа-синуклеина, а также выявления молекулярных и генетических механизмов развития БП и других синуклеинопатий.

Научный руководитель — канд. биол. наук С. П. Медведев

Исследование агрегативности суспензионной клеточной культуры *Arabidopsis thaliana* с нокаутом гена *GAUT1*

А. С. Щелокова

Новосибирский государственный университет,
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Растительные суспензионные системы экспрессии — перспективная альтернатива традиционным, однако их существенный недостаток — низкий выход целевых продуктов по сравнению с культурами клеток млекопитающих. Предполагается, что это обусловлено тенденцией растительных клеток к образованию агрегатов в суспензиях, поскольку уменьшение размера клеточных агрегатов сопряжено с возрастанием синтетических способностей растительной клетки в культуре *in vitro*.

В работах нескольких групп исследователей была показана роль пектина в межклеточной адгезии. Основываясь на представленных в научной литературе данных, мы предложили совершенно новый способ снижения агрегативности суспензионных культур растительных клеток: направленное выключение (нокаут) гена галактуринозилтрансферазы-1 (*GAUT1*) — основного фермента биосинтеза пектина.

В качестве объекта исследования использовали быстрорастущие суспензионные культуры клеток *Arabidopsis thaliana* с инсерцией репортерного гена *gfp*. Целью работы являлось исследование влияния нокаута гена *GAUT1* на агрегативность и синтетическую активность суспензионной культуры *A. thaliana*.

Из имеющихся 22 трансгенных клеточных линий *A. thaliana* для проведения нокаута были отобраны две моноинсерционные линии, контрастные по морфологии клеточных агрегатов и накоплению репортерного белка GFP. Нокаут гена *GAUT1* проводили методом геномного редактирования (CRISPR/Cas9) с использованием агробактериальной трансформации и биобаллистики. В результате отбора по устойчивости к гербициду фосфинотрицину была выделена 21 клеточная линия. В данный момент проводится предварительный рестрикционный анализ всех выделенных линий на наличие нарушений в гене *GAUT1*.

Научный руководитель — канд. биол. наук Ю. В. Сидорчук

Функциональная характеристика консервативного белка NON3 (Novel Nucleolar protein 3) на модели *Drosophila melanogaster*

А. А. Юшкова

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

Изменения в морфологии и функции ядрышка непосредственно связаны с пролиферацией и ростом клеток, а также с регуляцией клеточного цикла. Риск возникновения раковых заболеваний повышается на фоне гаплонедостаточности или мутаций генов, кодирующих компоненты рибосомных субъединиц и белки, участвующие в процессинге предшественника рибосомной РНК. В настоящее время у ряда ядрышковых белков выявлены дополнительные функции, связанные с разными ключевыми клеточными процессами.

В данной работе проводится функциональная характеристика малоизученного белка NON3 (Novel nucleolar protein 3) *D. melanogaster*, относящегося к высококонсервативному BRIX-домен-содержащему семейству белков. Как у дрожжей, так и у человека белок RPF2 (ортолог NON3) принимает участие в процессинге предшественника большой рибосомной РНК. Снижение количества белка NON3 в культивируемых клетках S2 дрозофилы влияет на формирование веретена деления, но задействованный при этом молекулярный механизм неизвестен. Ранее в нашей лаборатории белки NON3 и HP1 были идентифицированы при помощи масс-спектрометрического анализа в составе комплексов с белком гетерохроматина SUUR.

В рамках работы впервые охарактеризованы фенотипы мутаций по гену *NON3*, созданы плазмидные конструкции и получены линии трансгенных мух для индуцируемой экспрессии белков NON3-GFP и GFP-NON3 под контролем последовательности UAS. Показано, что в клетках дрозофилы белок NON3 является компонентом хроматина и локализуется в ядрышке. Методом GST-pulldown подтверждено взаимодействие белка NON3 с предполагаемым белком-партнером SUUR. Обнаружено, что в прицентромерных районах хромосом белок HP1 не выявляется у мутантов по гену *NON3*, при этом общее количество белка HP1 в клетках не снижается. Известно, что отсутствие HP1 влияет на кинетохор-зависимый рост микротрубочек веретена деления. Таким образом, мы предполагаем, что изменение состава прицентромерного хроматина у мутантов NON3 приводит к нарушению формирования веретена деления.

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

ЭКОЛОГИЯ

УДК 598.25, 578.4

Экологические аспекты циркуляции вируса гриппа у диких гусеобразных на юге Западной Сибири

О. Р. Абдрашитова

Томский государственный университет

Вирусы гриппа типа А имеют широкий круг хозяев, однако основным естественным резервуаром, обеспечивающим непрерывную циркуляцию вируса гриппа, являются дикие птицы водного и околотовного комплекса, относящихся к отрядам *Anseriformes* и *Charadriiformes* (Webster et al., 1992). Многие из них регулярно совершают миграции на большие расстояния, тем самым потенциально могут распространять вирусы гриппа LPAI между странами или даже континентами (Sivay et al., 2012).

Цель исследования — сравнить половой и возрастной состав зараженных и «чистых» диких гусеобразных севера Кулундинской равнины. Проанализированы клоакальные смывы 439 особей 15 видов гусеобразных, добытых во время охоты осенью 2016 и 2017 г., а также весной 2017 г. на территории Карасукского р-на Новосибирской области.

Основную выборку составляли несколько видов уток: красноголовый нырок (*Aythya ferina*) — 53,1 %, кряква (*Anas platyrhynchos*) — 11,4 %, чирок-свистунок (*A. crecca*) — 10,9 %. Среди всех особей птиц осенью 2016 г. вирус выделен в 8,06 % случаев, весной 2017 — 0 % и осенью 2017 — 7,91 %. В большей степени заражены в отдельные сезоны оказались: серая утка (*A. strepera*) — 42,9 %, шилохвость — 25,0 %, чирок-свистунок — 16,0–22,7 %, широконоска (*A. chapeata*) — 14,3 %, чирок-трескунок (*A. querquedula*) — 8,3%. Меньше заражены кряква — 4,2 % и красноголовый нырок — 1,1 %, несмотря на значительное количество проанализированных особей, что может указывать на их меньшую восприимчивость к вирусу. Другие виды оказались свободны от возбудителя, возможно, это объясняется меньшей выборкой.

Среди зараженных птиц в целом преобладали молодые особи (73,7 %) как и у стерильных (70,4 %), однако в 2016 г. среди стерильных преобладали взрослые (60,0 %), тогда как зараженными оказались молодые (100 %). Количественная доля зараженных самцов (73,7%) не совпадала с долей этого пола у стерильных (64,3 %), хотя различия не достоверны.

Таким образом, показано, что заражение самцов и молодых особей, вероятно, происходит чаще, чем самок и взрослых птиц.

Научные руководители — канд. биол. наук К. А. Шаршов,
канд. биол. наук И. Г. Коробицын

**Особенности анатомии и морфологии *Dianthus versicolor* Fisch.
в зависимости от области произрастания**

А. Б. Агеенко

Новосибирский государственный университет

Структуры живых организмов нередко отражают условия жизни, реагируя на изменения состояния среды обитания. Экологическая анатомия растений — это малоизученная область, которая находится в процессе развития и нуждается в проведении дополнительных исследовательских работ. Особенности анатомии и морфологии *Dianthus versicolor* Fisch., произрастающей в высокогорьях Алтая, во многом зависят от места и условий вегетации: экспозиции склона, состава почвы, направления преобладающих в месте исследования ветров, перепадов температур и уровня влажности.

Научный руководитель — А. Н. Трубицына

**Плоидность и половая структура популяции
Carassius gibelio водохранилища Бугач (бассейн р. Енисей)**

Т. А. Алахтаева

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Пресноводные виды рода *Carassius* широко распространены по территории Европы и Азии. В настоящее время выделяют пять видов рода *Carassius*: *C. carassius*, *C. gibelio*, *C. langsdorfii*, *C. cuvieri*, *C. auratus* и один вид с неясным таксономическим статусом [1]. В Красноярском крае распространены *C. gibelio* (серебряный карась) и *C. carassius* (золотой карась). Известно, что серебряный карась может иметь трехплоидную форму, которая размножается гиногенетически, и диплоидную форму, размножающуюся обычным бисексуальным способом [3]. Информация о плоидности и происхождении популяций серебряного карася в водоемах Красноярского края в настоящее время отсутствует [4].

Целью работы являлось установление типа плоидности и соотношение особей разных половой в популяции серебряного карася водохранилища Бугач (бассейн р. Енисей). Для определения плоидности был использован метод прямого получения хромосом из регенерирующей ткани с модификациями [2]. Соотношение полов рассчитано по данным промысловых уловов за 1999–2003 гг. (454 экз.).

Установлено, что популяция водохранилища Бугач является диплоидной, соотношение самок и самцов 1 : 1,1. Результаты работы подтверждают данные о том, что диплоидному набору хромосом соответствует обоеполая популяция серебряного карася [4].

1. Rylková K. et al. Phylogeny and biogeographic history of the cyprinid fish genus *Carassius* (Teleostei: Cyprinidae) with focus on natural and anthropogenic arrivals in Europe // *Aquaculture*. 2013. V. 380. P. 13–20.

2. Ozuouf-Costaz C. et al. Fish cytogenetic techniques: Ray-fin fishes and chondrichthyans. CRC Press, 2015.

3. Абраменко М. И. Адаптивные механизмы распространения и динамики численности *Carassius auratus gibelio* в Понто-Каспийском регионе (на примере Азовского бассейна) // *Российский журнал биологических инвазий*. 2011. Т. 4. № 2. С. 3–27.

4. Зуев И. В. и др. Современный состав и распространение чужеродных видов рыб в водных объектах Красноярского края // *Российский журнал биологических инвазий*. 2016. Т. 9. № 3. С. 28–38.

Научный руководитель — канд. биол. наук доцент И. В. Зуев

**Результаты краткосрочного мониторинга рекультивированного
нефтезагрязненного участка Советского месторождения
Нижневартовского района**

А. А. Александрова

Нижневартовский государственный университет

В начале 1960-х гг. советское правительство взяло курс на освоение природных богатств Севера. Вскоре начались геологоразведочные работы в районе озера Самотлор близ Нижневартовска. В 1964 г. селу был присвоен статус рабочего поселка, а в 1965 г. в окрестностях озера забил первый нефтяной фонтан небывалой мощности. Так начиналась история нашего района. Сейчас месторождения продолжают разрабатываться, но появились проблемы: как при таком огромном негативном воздействии на окружающую среду сохранить ее первозданность или хотя бы частично восстановить нарушенные земли?

В последнее время в результате добычи углеводородов увеличивается количество загрязненных земель. В Ханты-Мансийском автономном округе по разным оценкам площадь земель, загрязненных продуктами нефтедобычи, составляет 55,7 тыс.; подверглось рекультивации чуть более 10 %, из них только 16 % восстановлены до природного состояния.

Целью данной работы является наблюдение за участком на Советском месторождении после рекультивации в течение трех лет. Исследование представляется актуальным как с точки зрения получения достоверной информации происходящих изменений, так и для дальнейшего прогнозирования экологических последствий деятельности человека на данной территории.

На участке произошла авария вследствие отказа трубопровода. В 2015 г. были проведены рекультивационные мероприятия.

На протяжении трех лет (2015–2017 гг.) с рекультивированного участка были отобраны пробы почвы для выявления динамики содержания нефтепродуктов, хлоридов, водородного показателя, а также для анализа химического состава почв и составления характеристики состояния участка.

Для полной оценки анализа прошедших рекультивацию почв требуются многолетние исследования с характеристикой содержания в почве и растительности большего спектра химических показателей.

В целом исследованные почвы на протяжении трех лет имеют тенденцию к восстановлению до природного состояния.

Научный руководитель — С. П. Мальгина

Культивирование ряски-многокоренника в условиях лаборатории

С. И. Алексеева

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

Представители подсемейства Рясковые (Lemnoideae, семейство Ароидные) — мелкие плавающие на поверхности воды высшие растения, которые иногда ошибочно относят к водорослям. В последние десятилетия ряски рассматриваются как ценный экспериментальный объект для лабораторных исследований благодаря ряду положительных качеств. При относительной простоте строения и вегетативном размножении растение обладает быстрым ростом, высокой чувствительностью к поллютантам. Неприхотливость ряски к среде обуславливает легкость культивирования в лабораторных условиях на синтетических питательных средах с использованием света и тепла определенной интенсивности. Возможность обеспечения оптимальных условий для лабораторного выращивания рясок позволяет проводить исследования в течение года независимо от вегетационного сезона в естественных условиях.

Целью работы является оптимизация, получение и сохранение маточных популяций ряски-многокоренника в лабораторных условиях.

Образцы ряски-многокоренника были собраны из диких популяций на водоемах пригородной территории г. Якутска в течение июня 2014 года. Образцы культивировались в питательной среде Гельригеля с разным соотношением солей. Наиболее оптимальный рост и развитие дали образцы, культивируемые в ¼ питательной среды Гельригеля. В течение более трех лет поддерживаются маточные культуры *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid. в колбах (250 мл) при комнатной температуре и интенсивности света 3 тыс. люкс со световым периодом 24 ч/сут. в зимний период и 12 ч/сут. в летний период.

Таким образом, важным условием для культивирования ряски-многокоренника является правильный подбор освещения, оптимальной температуры, нейтральной или слабощелочной реакции среды.

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

Конструктивные особенности злаков в связи с их местообитанием

А. К. Антоненко

Новосибирский государственный университет

Семейство Poaceae — одно из самых известных, эволюционно продвинутых и специализированных представителей в классе однодольных растений. Это связано с их высокой хозяйственной ценностью и ролью в сложении травянистых биоценозов. Влияние особенностей местообитания на морфологическое строение злаков — малоизученная сторона жизни представителей семейства Poaceae.

Цель работы — выявить связи конструктивных особенностей строения генеративной и вегетативной сферы растений Poaceae в разных биомах. Для этого были рассмотрены и проанализированы основные диагностические признаки злаков (соцветие, число цветков, колосья, ость, лигула, опушение), собранных в пяти растительных сообществах Омской области в 2017 году: степь, разнотравный луг, березовый лес, сосновый лес, берег водоема.

Для всех пяти растительных сообществ характерно преобладание многолетних злаков, однолетние встречаются только в степи и на берегу водоема. В каждом сообществе одного четко доминирующего вида не обнаружено. Прослеживается тенденция к увеличению высоты растений с увеличением степени увлажнения почвы. В степных, лесных, приводных сообществах все собранные виды, обладающие лигулой и содержащие более двух цветков в соцветии, имеют опушенную листовую пластинку, но не имеют опушения на нижней цветковой чешуе.

Для разнотравного луга обнаружилась совершенно противоположная ситуация — одновременное наличие опушения на нижней цветковой чешуе и листьях. В пространственно закрытых биотопах, таких как березовый и сосновый лес, преобладают растения с метельчатым соцветием и раскидистыми колосьями. Наблюдается преобладание злаков с опушенными листовыми пластинками.

На основе сбора данных и анализа полученных диаграмм была предложена гипотеза, описывающая корреляцию некоторых выбранных нами признаков с условиями мест сбора. Преобладание злаков с метельчатым соцветием и раскидистыми колосьями в пространственно закрытых сообществах является единственной возможностью для распространения и анемофилии.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Л. Б. Пшеницына

**Закономерности изменения таксономического состава населения
и жизненных форм ногохвосток (*Collembola*)
в зависимости от антропогенного воздействия**

Д. А. Бабошко

Новосибирский государственный университет

Коллемболы (*Collembola*) в настоящее время представляют интерес как для фундаментальной науки, так и для практического применения, являясь достаточно точными биоиндикаторами при выявлении загрязненности почв.

Исследования проведены в 2017 г. в различных биотопах Академгородка. В работе были использованы стандартные методы количественного и качественного учета ногохвосток: отбор почвенно-подстилочных проб. Экстракция микроартропод была проведена с помощью воронок Тулльгрена в течение семи дней до полного иссушения субстрата. Всего собрано около 30 проб, определено более 250 экз. коллембол. Жизненные формы ногохвосток рассмотрены по системе С. К. Стебаевой.

В природном биогеоценозе реки Зырянка в основном преобладают ниже-подстилочные (52,3 % от общего числа особей) и почвенные формы (38,4 %) коллембол, так как влияние на почву человека минимально, а также ввиду малого распространения лишайников и мхов. В сравнении с пробами из жилой зоны Академгородка таксономическое разнообразие ногохвосток в долине реки Зырянка достаточно скудное и представлено, в основном, представителями семейств *Izotomidae* (51,1 %) и *Onychiuridae* (26,7 %), т. е. основными семействами подстилочных и почвенных жизненных форм. Пигментация экземпляров с этой местности практически не выражена, а глаза редуцированы или же развиты очень слабо.

В пробах, взятых в местах с заметной антропогенной нагрузкой (близ Института теплофизики) преобладают формы, приуроченные к лишайникам и мхам (57,7 %), а также подстилочные формы (34,6 %). Вероятно, с одной стороны, это связано с одной стороны с сильным загрязнением почвы, а с другой — с достаточно большими участками лесных насаждений богатыми мхами и лишайниками. Таксономическое разнообразие представлено в основном представителями сем. *Hypogastruidae* (60,2 %), *Onychiuridae* (29,4 %), *Sminthuridae* (5,1 %) и др. В экземплярах с этими биотопами ярко выражена пигментация и наличие хорошо развитых глаз.

Научный руководитель — В. В. Молодцов

**Первые данные об экологии уникальных эпифитных
спорообразующих грибообразных протистов республики Саха (Якутия)**

Я. В. Баранова

Новосибирский государственный университет,
Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск

Экологический мониторинг, основанный на биоиндикации, позволяет оценить степень и направленность изменений состояния окружающей среды под воздействием природных и антропогенных факторов, оказывающих влияние на изменение региональных экосистем. В связи с особенностями биологии многие группы организмов не подходят в качестве биондикаторов состояния окружающей среды. Наиболее перспективными являются таксономические группы, имеющие короткий жизненный цикл и относительно хорошо поддающиеся учету как в природе, так и в лаборатории. Таким образом, миксомицеты (*Mycetozoa* = *Eumycetozoa*) являются наиболее подходящей группой организмов для проведения долгосрочных и краткосрочных экологических исследований. Миксомицеты, или слизевики — это группа наземных грибообразных спорообразующих протистов, насчитывающая около 900 видов, объединенных в пять порядков.

Целью данного исследования является изучение видового состава и регионально-экологических особенностей кортикуллоидных миксомицетов лесных сообществ юго-востока республики Саха (Якутия). Данные исследования позволят заложить глубокую фундаментальную основу для изучения процессов аридизации Евразии и дальнейшего биомониторинга не только лесных сообществ республики Саха (Якутия), но и других прилегающих территорий.

Изучение биологического разнообразия миксомицетов в России осуществляется довольно давно, однако нельзя сказать, что изучены они в равной степени, более того, исследован далеко не каждый регион. В республике Саха (Якутия) таких исследований не проводилось, поэтому данная работа содержит первые научные данные о миксомицетах в этом регионе.

Субстрат для исследований был собран в двух различных лесных сообществах: вблизи г. Якутска и г. Нерюнгри. Под субстратом в данном случае следует понимать кору древесных растений. Для выявления биоразнообразия слизевиков эпифитно-кортикуллоидного комплекса в работе был методом «влажных камер». Нами было поставлено 183 опыта с «влажными камерами» (субстраты с двух точек).

Работа содержит как первые сведения о видовом составе слизевиков в регионе, так и данные об исследованиях некоторых закономерностей, которые проявляются в экологии миксомицетов:

1) исследования продуктивности различных типов субстрата (коры древесных растений);

2) анализ влияния фактора кислотности субстрата на видовое разнообразие;

3) выявление зависимости видового состава миксомицетов от породы древесного растения.

Среди шести древесных пород, с которых производился сбор коры, наибольшим видовым разнообразием характеризуется сосна. Полученные результаты связаны со структурой исследуемой коры, поскольку складки коры заселяются водорослями, грибами, микроорганизмами, которые служат пищей миксомицетам. Другими словами, в них появляются различные микроэкониши. Важно отметить, что высокая степень складчатости способствует наиболее эффективному оседанию спор. Также в ходе исследований было показано, что кислотность субстрата не является лимитирующим фактором для расселения миксомицетов.

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

**Протекторный эффект предобработки растений
картофеля эпибрассинолидом на фоне хлоридного засоления**

Е. В. Бойко, Л. В. Коломейчук, М. К. Малофий, Kabil F.

Томский государственный университет,

Каирский университет, г. Каир, Египет

Проблема засоления сельскохозяйственных земель является лимитирующим фактором для агропромышленного комплекса. Наибольший негативный эффект оказывает хлоридное засоление. Один из способов защиты растений — применение экзогенных фитогормонов. В основном изучают эффект фитогормонов в условиях стресса. Целью данного исследования было оценить протекторный эффект кратковременной предобработки растений картофеля 24-эпибрассинолидом (ЭБЛ) (четыре часа воздействия, 10 пМ) на фоне хлоридного засоления (100 мМ NaCl). В качестве объекта исследования использовали шестинедельные растения картофеля сорта «Жуковский ранний», выращенные в условиях аквакультуры. Подробное описание условий выращивания растений приведено в публикации (DOI: 10.1134/S0012496618010106). После окончания эксперимента определяли ростовые (длина осевых органов, количество столонов, площадь листьев) и физиологические (содержание фотосинтетических пигментов, интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ)) показатели.

В результате проведенного исследования было показано, что кратковременная предобработка растений ЭБЛ стимулировала рост побега, увеличение числа ярусов, столонов и суммарной площади листьев, но подавляла рост корней. Содержание всех групп фотосинтетических пигментов увеличивалось; интенсивность ПОЛ в листьях, стеблях и корнях снижалась. Хлоридное засоление подавляло рост осевых органов, суммарная площадь листьев и количество столонов снижались. Содержание пигментов уменьшалось; интенсивность ПОЛ в листьях и корнях увеличивалась в полтора-два раза. Кратковременная обработка растений ЭБЛ значительно снижала отрицательное влияние засоления на ростовые показатели. Интенсивность ПОЛ во всех частях растения снижалась, что свидетельствует о подавлении развития окислительного стресса.

В данной работе нами было впервые показано, что кратковременная предобработка растений картофеля эпибрассинолидом приводила к способности растений отвечать на «отсроченный» солевой стресс снижением ПОЛ и повышением солеустойчивости.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-54-61016.

Научные руководители — чл.-корр. РАН В. В. Кузнецов,
канд. биол. наук, доцент М. В. Ефимова

Таксономическая структура флоры эфемероидов растительного покрова Хабаровского края

А. С. Варфоломеева

Тихоокеанский государственный университет, г. Хабаровск

Цель нашей работы — выявить видовой состав эфемероидов; проанализировать соотношение таксономических групп различного ранга для выяснения роли эфемероидов в сложении растительного покрова на территории Хабаровского края.

Материал для исследования собран нами в период с 2012 по 2016 гг. Таксономическая принадлежность видов определена по «Сосудистым растениям советского Дальнего Востока», 1985–2006 гг. (Т. 1–9). Аннотированный список включает 90 видов, относящихся к 47 родам и 28 семействам.

Наблюдается преобладание представителей класса двудольных над классом однодольных. В семейственном спектре явно выделяются первые три семейства — лютиковые, фиалковые и спаржевые (39 видов (43,4 %)). Лидирующее положение семейства лютиковые объясняется биологическими особенностями многих представителей этого семейства, как раннее цветение «из-под снега». Высокие позиции семейств фиалковые и спаржевые обеспечиваются экологическими особенностями видов. Большинство представителей этих семейств преимущественно влаголюбивые лесные растения. Представители семейства лютиковые характерны для бореальных флор, а семейства лилейные (= спаржевые) и фиалковые — пребореальной (неморальной) флоры. Таким образом, флора эфемероидов нашего края представлена в основном лесными видами и имеет бореонеморальный характер. Это согласуется с расположением территории Хабаровского края на стыке двух флористических областей — Бореальной и Восточноазиатской — и двух природных зон — хвойных и лиственных лесов.

В родовом спектре первые десять позиции занимают по мере убывания видовой насыщенности роды: фиалка — осока — лютик — хохлатка — селезенок — купена — сердечник — молочай — калужница — прострел. Остальные роды более или менее равнозначны по числу видов. В ведущих родах преобладают мезофиты и мезоксерофиты (род прострел). Это позволяет характеризовать флору эфемероидов растительного покрова Хабаровского края как мезофильную.

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

Новые данные по числам хромосом для некоторых видов флоры Крыма

Д. А. Васильева, И. С. Троева

Новосибирский государственный университет,
Центральный сибирский ботанический сад СО РАН

Флора полуострова Крым представляет собой научный интерес для изучения в связи со специфическими условиями произрастания растений, которые обусловлены природно-климатическими характеристиками данного полуострова. Для поддержания актуальности данных систематики и расширения сведений о популяциях, произрастающих в данной местности, необходимы цитотаксономические исследования, одним методом из которых является подсчет числа хромосом.

Материал был собран в экспедиции в Крыму (гербарные образцы хранятся в фондах ЦСБС СО РАН (NS)) сотрудниками ЦСБС СО РАН в октябре 2016 года. Затем в лабораторных условиях был посеян, всходы были зафиксированы в колхицине. Для последующего хранения материал был перемещен в пробирки с 70 % спиртом. Далее нами были приготовлены давленные препараты для подсчета чисел хромосом четырех видов пяти популяций.

Для исследования и фотографирования препаратов использовался комплекс для ввода и анализа изображений фирмы Carl Zeiss MicroImaging GmbH, включающий световой микроскоп Axioskop-40, видеокамеру AxioCam MRc5 и морфометрическое программное обеспечение AxioVision 4.6 в центре коллективного пользования ЦСБС СО РАН.

Всего нами было изготовлено и рассмотрено более 183 препарата, у 20 из которых удалось подсчитать хромосомы для четырех видов четырех популяций.

В результате исследования число хромосом для каждого из исследуемых видов составило $2n = 15$ для *Chondrilla juncea* L., $2n = 18$ для *Pyrethrum parthenofolium* Willd, 13 для *Dianthus armeria* L. (требуется $n = 15$; $2n = 30$), $2n = 18$ и $3n = 27$ для *Tripleurospermum perforatum* (Mérat) M. Laínz.

Научный руководитель — Е. А. Королюк

Экология сибирских аммонитов семейства (Cardioceratidae)

Д. И. Виноградов

Новосибирский государственный университет

Цели исследования — изучение экологического, таксономического разнообразия и возрастной изменчивости келловейских аммонитов семейства *Cardioceratidae*, обнаруженных на севере Сибири. Определение значимости проявлений полового диморфизма и параллелизма в анализе строения их раковин.

Коллекция Кардиоцератид была собрана в районе Анабарской губы, (республика Саха, Якутия). Материал, найденный в местах естественного выхода келловейского яруса, содержит > 50 экземпляров. Сложность определения систематического положения обуславливается высокой возрастной изменчивостью, трудной доступностью и иногда низкой сохранностью исследуемого материала. По этой же причине не всегда возможно сделать количественную выборку для проверки тех или иных предположений, поэтому исследование сибирских аммонитов имеет перспективы развития в будущем. Основными таксономическими признаками являются: лопастная линия, диаметр умбеликальной воронки, коэффициент ветвления ребер, размер раковины и пр. Нам удалось выяснить то, что раковины аммонитов, найденные на севере Сибири, значительно отличаются от ископаемых с Восточно-Европейской платформы.

В результате исследования было установлено, что в одном и том же временном ярусе, одновременно встречаются крупные раковины ($D > 100$ мм) и мелкие, более плоские ($D < 40$ мм). Это может быть вызвано явлением полового диморфизма, которое наблюдается и у современных головоногих (Аргонавты) или же просто одной из форм проявления полиморфизма. Для того чтобы строить предположения об изменчивости, необходимо определить окончание роста и финальные размеры раковины. Анализируя данные, мы пришли к такому выводу, что главенствующая роль в изменчивости принадлежит полиморфизму. Для Кардиоцератид нами был определен характер этой изменчивости непосредственно в келловейском периоде и описаны эволюционные изменения в форме, скульптуре раковины и в рисунке лопастной линии.

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

Фитогенные поля древесных растений

О. В. Голота

Новосибирский государственный университет

Фитоценоз имеет закономерное строение. Он структурирован в пространстве по вертикали и горизонтали. В данной работе рассматривается горизонтальное строение фитоценоза и изучается, каким образом существование какого-то крупного доминанта в ту или иную экосистему нарушает или структурирует сообщество.

Целью данной научной работы было изучение влияния разных пород деревьев на окружающий травянистый покров, выяснение причин проникновения или непроницаемости для отдельных видов растений фитогенных полей разных деревьев.

Сбор растительных материалов производился в Кудряшовском бору-брусничнике в 15 км к югу от г. Колывань; в сосново-березово-орляковых лесах в 6 км к югу от д. Бурмистрово и в окрестностях Академгородка.

В ходе исследования было выяснено следующее. 1. Наибольшее количество видов обнаружено в ценекулах сосны. 2. Коэффициент Жаккара показал, что во всех трех точках наибольшим сходством обладали приствольные круги березы и сосны, а наименьшие коэффициенты между сосной и контролем оказались в Кудряшовском бору-брусничнике. 3. Изучение систематического состава показало преобладание растений из двух семейств — Fabaceae и Rosaceae. 4. Изучение экологических групп показало, что во всех вариантах преобладали мезофиты, наиболее широкий спектр оказался вокруг сосны, нежели чем у березы.

Были выявлены виды, тяготеющие только к березам: *Platanthera bifolia*, *Lathyrus vernus*, *Rubus saxatilis*, *Fragaria viridis*, *Vicia cracca*, *Medicago falcata*, *Solidago virgaurea*, *Carum carvi*, *Calamagrostis purpurea*, *Trifolium hybridum*; и виды, тяготеющие только к соснам: *Stellaria graminea*, *Viola hirta*, *Fragaria vesca*, *Dactylis glomerata*, *Lathyrus gmelinii*, *Lathyrus pisiformis*, *Vaccinium myrtillus*, *Populus tremula*, *Sorbus sibirica*, *Galium verum*.

Научный руководитель — Л. Б. Пшеницына

Сравнительный анализ сорбентов растительного происхождения для нейтрализации нефтяных разливов

Я. В. Гребнев

Сибирский государственный университет
науки и технологий им. акад. М. Ф. Решетнева

В последние годы все большую актуальность приобретают проблемы экологии, вызванные нарастающей техногенной нагрузкой. Одним из самых весомых факторов, оказывающих негативное влияние на окружающую среду, является добыча углеводородов, а также утечки в результате эксплуатации и транспортировки нефти.

В настоящее время применяемые механические, химические и физико-химические методы борьбы с нефтяными загрязнениями не отвечают требованиям недопущения нанесения дополнительного вреда при очистке территорий. Поэтому разработка эффективных и более безопасных методов борьбы с нефтяными разливами является актуальной задачей.

Основная цель настоящей работы — сравнительный анализ сорбентов растительного происхождения для нейтрализации нефтяных разливов.

В работе проводился сравнительный анализ сорбентов растительного сырья, используемых для нейтрализации нефтяных разливов с использованием аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов. В лабораторных условиях устанавливали максимальную нефтеемкость сорбента в зависимости от сорбционной емкости. Рассматривались следующие виды растительного сырья: древесные опилки, опавшая листва, отходы переработки трав, рисовая шелуха, хлопковые отходы, лузга подсолнечника, макулатура, кукурузные початки. В качестве нефтеокисляющих микроорганизмов использовались штаммы рода *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, а также исследовалась смесь, состоящая из бактерий, дрожжей и грибов. Результаты эксперимента показали, что среди исследованных сорбентов растительного происхождения наилучшие показатели сорбционной нефтеемкости показало использование макулатуры в совокупности со смесью аборигенных микроорганизмов, дрожжей и грибов. Данная смесь способна сорбировать от 50 до 70 г нефти на 1 г сорбента. При сорбировании нефти процесс окисления проходит значительно быстрее, поскольку при содержании нефти 10–15 % вся она практически находится в сорбенте, а отсутствие пленки на поверхности среды снижает дефицит кислорода и увеличивает эффективность микробного воздействия на углеводороды нефти.

Научный руководитель — д-р техн. наук Т. В. Рязанова

К экологии и морфологии колонка в Якутии

Р. В. Егасов, А. А. Устинов, Н. Н. Осипова
Северо-Восточный федеральный университет
им. М. К. Аммосова, г. Якутск,

Якутская государственная сельскохозяйственная академия, г. Якутск

Колонок в Якутии населяет бассейн Вилюя, Лено-Вилюйское и Лено-Амгинское междуречья и бассейны рек Алдана и Олекмы. По оценке Департамента охотничьего хозяйства РС (Я) современная популяция вида насчитывает около 7,1 тыс. особей.

Для характеристики колонка в Якутии нами исследованы 61 тушка колонка, полученные от охотников. Проанализирована охотничье-промысловая статистика за 1837–1859 гг. и 1941–2013 гг.

В Якутии распространен номинальный подвид — *M. s. sibiricus*. В размерах тела разновозрастных самцов колонков отмечались существенные различия. Молодняк самцов мельче, чем взрослые по массе ($381,3 \pm 30,1$ г и $487,1 \pm 23$ г соответственно) и по длине тела ($333,6 \pm 19,3$ мм и $357,8 \pm 5,1$ мм соответственно). У самок аналогичной тенденции в размерах проследить не удалось. У самцов отмечалось увеличение размеров черепа с увеличением возраста.

В числе сеголетков самки значительно преобладали над самцами, среди взрослых особей самцов было значительно больше. Соотношение молодняка и взрослых было 1:1. Доля зверьков на втором году жизни составляла 34,2 %. Последующие возрастные группы 2+ и 3+ лет были представлены по 7,9 % соответственно. Зверьки в возрасте четырех лет и старше в пробах не отмечались.

В начале XIX века объемы добычи колонка были не велики и редко превышали 5000 экз. В прошлом столетии уровень заготовок шкурок вида достигал 28490–31566 экз. (1953–1954 гг.). Причем пик добычи вида пришелся на период депрессии численности соболя. В настоящее время из-за низких закупочных цен добыча колонка, как правило, носит случайный характер. В 2008–2010 гг. шкурки этого зверька в Якутии в среднем закупались по 63,3 рубля за 1 экз. В отдельные годы шкурки колонка выставляются на продажу на Международном Санкт-Петербургском аукционе. Стоимость этой пушнины невысока и составляет 6,75–11,0 долларов США за шкурку, однако обычно они остаются не проданными.

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

Фитопланктон озера Посейн-Лор (МЭиЭП Югра, ХМАО-Югра)

В. И. Егорова

Нижевартовский государственный университет

Приведены результаты исследования фитопланктона озера Посейн-Лор: разнообразие, численность, эколого-географические и сапробиологические показатели, полученные в период открытой воды 2015–2016 гг. Результаты исследований внесены в кадастровые списки Музейно-этнографического и экологического парка Югра (МЭиЭП Югра).

Сбор материала, их подготовка, обработка и обсуждение проведены принятыми в альгологии методами, списочный состав цианопрокариот и водорослей приведен в соответствии с номенклатурными изменениями информационного ресурса «Algae Base» 2017 г.

В период исследований 2015 г. и 2016 г. температура воды в озере находилась соответственно в пределах плюс 14–18 °С, прозрачность по диску Секи — 76–89 см, рН в диапазоне 4,5–5,5.

Выявлено 67 видовых и внутривидовых таксонов (далее ввт) водорослей и цианопрокариот, входящих в состав 41 рода, 31 семейства, 12 классов и 6 отделов. К наиболее крупным отнесены Bacillariophyta и Chlorophyta, в состав которых входят по 26 ввт, в сумме их доля составляет 77,6 %. В общем списке Цианопрокариоты представлены 6 ввт, Euglenophyta — 4, Chrysophyta — 3, Xanthophyta — 2.

По разнообразию выделяется 2 семейства Eunotiaceae (10 ввт), Desmisiaceae (8) и 4 рода Eunotia, Frustulia, Monoraphidium и Staurastrum (по 4 ввт), что в основе объясняется подкислением среды обитания водорослей. Высокая концентрация водорослей классов Bacillariophyceae (25 ввт), Chlorophyceae (10) и Gonyatophyceae (9 ввт), а также большое число мало-видовых семейств (25) и родов (38) характеризует водоем как не устойчивую экосистему с низкой насыщенностью видов.

Наибольшая встречаемость отмечена у мелкоклеточных водорослей, в том числе *Oocystis marssonii* Lemmermann, *O. rhomboidea* Fott, *Mallomonas denticulate* P.A.Siver, *Tabellaria flocculosa* (Roth) Kütz.. В 2016 г. этот список пополнен *Asterionella formosa* Hassall.

При эколого-географическом анализе обнаружено преобладание малоизученных водорослей, преобладают космополиты, индифферентные планктеры. Показателями сапробности воды являются 39 видов, что составляет 46 % от общего числа. По сапробиологической оценке исследуемое озеро входит в бетамезосапробную зону (51 % от списка выявленных ввт).

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

Фаунистическое разнообразие и экология дождевых червей в биотопах речных долин лесостепного Приобья

С. А. Ермолов

Новосибирский государственный университет

Среди представителей почвенной фауны дождевые черви занимают особое место. Они являются основными образователями гумуса — заглатывая отмершую растительность и перемешивая ее в кишечнике с минеральными компонентами почвы, черви выделяют копролиты, обеспечивающие питание растений. Ходы дождевых червей важны для необходимого увлажнения и аэрации почвы. Целью данной работы является сравнение фаунистического разнообразия, обилия и состава жизненных форм дождевых червей в биотопах речных долин лесостепного Приобья (окрестности г. Новосибирск).

Основной метод учета — послойная выкопка и разбор почвы, дополненная выгонкой 0,25 % р-ром формальдегида. За полевой сезон 2017 г. исследованы профили, пересекающие склоны в долинах рек Барышиха, Крутиха, 2-я Ельцовка, Тула, Ноздриха и Иня. В долине Ини сбор проводился трижды (два раза — в августе, один — в сентябре) для наблюдений за сезонной динамикой. Эта долина по такой же схеме обследовалась и в 2016 г. Изученные профили различаются по типам почв и растительному покрову. На каждом профиле учеты (в четырех повторностях) проводились в трех фациях.

Наиболее широко распространены представители родов *Dendrobaena*, *Octolasion*, *Aporrectodea*, *Lumbricus*. Реже встречается род *Eisenia* и семейство Enchytraeidae. Главным доминантом почти на всех участках является *Octolasion lacteum*. На 2-й Ельцовке доминирует *Aporrectodea caliginosa caliginosa*, а на Крутихе также часто встречается *Eisenia nordenskioldi pallida*. Другие виды представлены примерно в одинаковых соотношениях во всех долинах. Наибольшее видовое разнообразие выявлено в долине Барышихи (индекс Шеннона — 2,19), наименьшее — в долине Крутихи. Для Ини проведен анализ сезонной динамики численности червей. Даны сведения о возрастной структуре популяций червей в каждой долине. Выявлена предполагаемая взаимосвязь отдельных видов дождевых червей с типом почвы и другими экологическими факторами.

Научные руководители — д-р биол. наук, проф. М. Г. Сергеев,
В. В. Молодцов

Распространение эфирномасличных растений семейства *Asteraceae* Dumort в Восточном Казахстане

Р. Ю. Иващенко

Новосибирский государственный университет

Вопрос о комплексном изучении эфирномасличных лекарственных растений и интенсификация сырьевой базы для медицинской промышленности приобретает особое значение в наши дни. Исследование видового состава и места обитаний ароматических дикорастущих культур является острой необходимостью для современной фармакологии.

Особый интерес вызывает широко представленное и эволюционно продвинутое, но малоисследованное в богатой гетерогенной флоре Казахстана семейство *Asteraceae* Dumort. Обладая обширным ареалом и рядом антисептических свойств, семейство имеет большие перспективы многоотраслевого практического использования.

Объектами изучения явились эфирномасличные растения семейства *Asteraceae* Dumort из природных экосистем. Работа выполнена на основе экспедиционных исследований растительности Южно-Алтайских хребтов Нарын и Сарымсакты, хребта Листвяга Западного (Рудного) Алтая, Калбинского хребта, горной системы Саур-Тарбагатай и частично Зайсанской котловины Восточно-Казахстанской области (ВКО).

В результате исследования флоры Восточного Казахстана было установлено распространение 52 видов эфирномасличных растений, принадлежащих к семейству *Asteraceae* Dumort; выделено 10 родов, из которых наибольшим количеством видов характеризуются род *Artemisia* — 34 вида, род *Tanacetum* — 4 вида, род *Achillea* — 3 вида и род *Inula* — 3 вида.

Установлено, что род *Artemisia* имеет наибольшее видовое распространение в Саур-Тарбагатае — 28 видов, в Зайсанской котловине — 18 видов и в Южном Алтае — 15 видов; род *Tanacetum*: Саур-Тарбагатай — 4 вида, Зайсанская котловина и Южный Алтай — по 3 вида; род *Achillea*: Южный и Западный Алтай — по 3 вида, Калбинский Алтай — 2 вида; род *Inula*: Южный и Калбинский Алтай — по 3 вида, Западный Алтай и Саур-Тарбагатай — по 2 вида.

Полученные данные свидетельствуют о неравномерном распространении эфирномасличных родов и видов растений семейства *Asteraceae* Dumort, что может быть обусловлено физико-географическими особенностями местности ВКО.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. А. Б. Мырзагалиева

Сезонная динамика и состав населения хортобионтных насекомых в биотопах долины малой реки.

Д. И. Ивкина

Новосибирский государственный университет

Равновесие экосистемы зависит от видового разнообразия растений и животных, поэтому важно выявить более полный набор ее обитателей. Имеется много работ по изучению энтомокомплексов различных ценозов, (Конева В. В., 2010; Шальнова М., 2016). В этих исследованиях выявлены доминантные виды, сделаны сравнительные анализы биотопов.

В представленной работе проанализирован материал, собранный с участка долины р. Зырянки (Советский р-н г. Новосибирска). Было выделено четыре биотопа верхней части долины реки: верхняя точка, склон, терраса, верхняя пойма. Сделано четыре повторности с промежутком в две недели между укусами. Общее число собранных беспозвоночных составило 8597 особей, принадлежащих 91 семейству из 12 отрядов насекомых и кл. *Gastropoda*.

Максимальное таксономическое разнообразие среди данных биотопов выявлено на террасе. Обнаружено, что численность хортобионтов наивысшая в середине летнего сезона. В первых двух учетах во всех биотопах часто встречаются представители отр. *Coleoptera* (доминантные сем. *Curculionidae*, *Cerambycidae* и *Coccinellidae*).

У верхней точки и склона схоже соотношение отр. *Aranei* (19 %, доминантные сем. *Tetragnathidae*, *Thomisidae*), *Hymenoptera* (41 %, доминантные сем. *Myrmicidae*, *Formicidae*, *Ichneumonidae*), *Homoptera* 9 %. Наибольшее кол-во представителей кл. *Gastropoda* 176 шт. и отр. *Aranei* 420 шт. на верхней точке. На террасе и верхней пойме видна общая закономерность соотношения отр. *Orthoptera* 4 % и *Hemiptera* (32 %, доминантное сем. *Miridae* и часто встречающиеся сем. *Nabidae*, *Pentatomidae* и *Berytidae*). Большую роль в этих двух биотопах играет отр. *Aranei* с доминантными сем. *Philodromidae*, *Salticidae*.

Научный руководитель — В. В. Молодцов

**Состояние ценопопуляций *Phlomoides tuberosa* (L.) Moench
в Горном Алтае**

Н. В. Казанцева

Новосибирский государственный университет

Объект исследования — зопник клубненосный (*Phlomoides tuberosa* (L.) Moench), короткокорневищное полурозеточное травянистое растение из сем. *Lamiaceae*. Цель работы — изучение биологии развития *P. tuberosa* и оценка состояния ценопопуляций (ЦП) вида на территории Горного Алтая. Материал собран в июле 2017 года в окр. с. Усть-Кокса. Изучена структура двух ценопопуляций. ЦП 1 расположена на остепненном разнотравно-злаковом лугу на опушке леса, ЦП 2 — на суходольном разнотравно-злаковом лугу на лесной поляне. В работе использованы данные Е. К. Комаревцевой (2016) по ЦП 3 вида, произрастающей на остепненном злаково-разнотравном деградированном лугу в окр. с. Усть-Кокса. Вид проходит полный онтогенез В-типа по классификации Л. А. Жуковой (1995). Подсчитан индекс возрастности (Δ) и индекс эффективности (ω) ЦП.

По классификации дельта-омега (Животовский, 2001) ЦП 1 и ЦП 2 являются старой и стареющей соответственно, ЦП 3 — молодой. Для комплексной оценки состояния ЦП по методике Л. Б. Заугольной (1994) выбраны такие морфологические параметры средневозрастных генеративных растений, как длина побега, длина листовой пластинки, общее число метамеров генеративного побега, число цветков в частном соцветии, надземная масса особи. В качестве популяционных параметров использована плотность особей в ЦП, эффективная плотность ЦП, ее эффективность (ω), индексы возобновления и старения ЦП.

Комплексная оценка ЦП показала, что к оптимальному состоянию приближается ЦП 1, в которой отмечено максимальное число баллов популяционных параметров (21 балл) и среднее суммарное организменных (15 баллов). ЦП 2 характеризуется минимальным суммарным значением популяционных параметров (12 баллов) и высокими показателями организменных признаков (21 баллов), а ЦП 3 — средними значениями популяционных (15 баллов) и минимальными значениями организменных признаков (10 баллов), что свидетельствует о стрессовых условиях для *P. tuberosa* в этих ценозах.

Научный руководитель — канд. биол. наук Е. К. Комаревцева

Радиолярии на рубеже сакмарского и артинского веков пермского периода (разрез Дальний Тюлькас, Южный Урал)

И. И. Каримуллина

Институт геологии и нефтегазовых технологий КФУ

Радиолярии — одноклеточные, планктонные микроорганизмы с кремневым скелетом, которые используются в геологии для определения возраста и условий образования осадочных пород. Объектом исследования стали радиолярии из отложений сакмарского и артинского ярусов обнажения Дальний Тюлькас. Актуальность исследования обусловлена тем, что разрез является претендентом на роль лимитотипа (GSSP) артинского яруса пермской системы Международной стратиграфической шкалы (МСШ).

Цель исследования — изучение радиолярий из пограничных сакмарско-артинских отложений обнажения Дальний Тюлькас. Задачи исследования: извлечение радиолярий из горных пород; определение видов радиолярий и возраста изученных отложений; описание и фотографирование наиболее важных форм; биостратиграфический анализ радиолярий; восстановление условий, в которых образовались изученные отложения.

В результате проведенного исследования обработано семь образцов из обнажения Дальний Тюлькас, в которых обнаружено 14 видов радиолярий: *Apophysiacus sakmariensis* Kozur et Mostler, *Copicyntra akikawaensis* SashidadanTonishi, *C. cuspidata* Nazarov et Ormiston, *C. phumatodonta* Nazarov et Ormiston, *Copiellintra diploacantha* Nazarov et Ormiston, *Entactinia pycnoclada* Nazarov et Ormiston, *Helioentactinia biexosphaera* Nazarov et Ormiston, *Latentibifistula triacanthophora* Nazarov and Ormiston, *L. valdneipta* Nazarov et Ormiston, *Rectotormentum fornicatum* Nazarov et Ormiston, *Stigmosphaerostylus* cf. *parapycnoclada* Nazarov et Ormiston, *Tetragregnon vimineum* Amon et Braun, *Tormentum circumfusum* Nazarov et Ormiston, *T. pavlovi* Kozur.

Наиболее богатый и разнообразный комплекс радиолярий обнаружен в верхней части сакмарского яруса (возраст определен В. В. Черных по конодонтам), здесь присутствуют виды, типичные для зоны *Rectotormentum fornicatum* нижней перми. Данный интервал разреза коррелируется с разновозрастными образованиями разреза Актасты (Северные Мугоджары). В начале артинского яруса существенных изменений в комплексе радиолярий не обнаружено, можно отметить только некоторое сокращение их количества в целом. В изученной коллекции радиолярии по форме раковин очень разнообразны, здесь обнаружены субтреугольные, игольчатые и разнообразные сферические формы (губчатые и пористые, с короткими и массивны-

ми, крупными иглами). Радиолярии представлены в основном сферическими формами, составляющими 88 % от общего числа радиолярий, на долю игольчатых приходится 11 %, субтреугольных — 1 %. Преобладают роды *Restotortum* и *Helioentactinia*, немногочисленны *Copicyntra* *Entactinia*, *Latentibifistula* и *Tetragregnon*, остальные роды представлены единичными экземплярами. Установлено, что на изученной территории располагалось теплое море, с относительно спокойным гидродинамическим режимом. В морском бассейне имелось значительное содержание кремнезема, поступавшего сюда, вероятно, в результате активной вулканической деятельности. Изученные радиолярии позволят дополнить палеонтологическую характеристику разреза Дальний Тюлькас, являющего кандидатом GSSP артинского яруса пермской системы МСШ.

Научный руководитель — канд. геол.-минерал. наук,
доцент Г. М. Сунгатулина

Зообентос устьев рек Берёзовка и Есауловка

Н. И. Кислицина

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Благодаря особенностям экологии донные беспозвоночные являются хорошими показателями происходящих изменений внешней среды. Одним из антропогенных факторов, который может повлиять на условия существования гидробионтов, является тепловое загрязнение поверхностных вод.

Цель работы — изучить структуру зообентоса устьев рек Берёзовка и Есауловка.

Для проверки влияния стоков теплых вод на зообентос были исследованы устье реки Берёзовка, принимающее стоки с Красноярской ТЭЦ-1, и устье реки Есауловка. Обе реки — правобережные притоки реки Енисей, находящиеся в одинаковых климатических условиях. Грунт рек представлен заиленной галькой. Пробы отбирали с помощью гидробиологического скребка и рамки, с площадью захвата $1/16 \text{ м}^2$ в июне, июле и августе 2017 г. в трех повторностях. Температура рек Берёзовка и Есауловка варьировала соответственно от $15,3$ до $22,7^\circ\text{C}$ и от $13,6$ до $17,9^\circ\text{C}$.

В р. Есауловка зафиксировано 26 видов зообентоса: личинки хирономид — 15 таксонов, поденки — 5, ручейники и олигохеты — по 2, веснянки и пиявки — по 1 виду. Из двукрылых по числу видов доминировали комары-звонцы (12 видов). Численность зообентоса устья реки за период исследования варьировала от 416 экз/м^2 до 472 экз/м^2 , биомасса — от $1,12 \text{ г/м}^2$ до $7,50 \text{ г/м}^2$. Практически во всех пробах по биомассе и численности доминировали ручейники.

В р. Берёзовка зарегистрировано 11 видов донных беспозвоночных: личинки хирономид — 7, олигохеты — 3, пиявки — 1 вид. Численность бентофауны за период исследования варьировала от 112 экз/м^2 до 232 экз/м^2 , биомасса — от $0,08 \text{ г/м}^2$ до $0,20 \text{ г/м}^2$. В июне и августе доминировали хирономиды, в июле — олигохеты. Низкие величины числа видов, численности и биомассы зообентоса в устье реки Берёзовка, по сравнению с устьем реки Есауловка, скорее всего, обусловлены поступлением теплых вод с Красноярской ТЭЦ-1.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент С. П. Шулепина

Использование нерастворимого сульфата стронция в качестве источника сульфата термофильным штаммом *Thermodesulfovibrio* V2

К. М. Климова

Томский государственный университет

Был исследован рост штамма V2 на модифицированной среде Видделя, не содержащей растворимых сульфатов. Эксперимент проводили при нейтральном pH и при температуре 65 °C. В качестве единственного источника SO_4^{2-} для восстановления к среде добавляли малорастворимый сульфат стронция в количестве 1,5 об. %. Были получены кривые роста штамма как в экспериментальных условиях, так и в стандартных условиях.

Thermodesulfovibrio sp. V2 стабильно рос и образовывал сероводород с использованием SrSO_4 . Удельная скорость роста при культивировании в присутствии растворенного сульфата (на стандартной среде Видделя) и в присутствии малорастворимого SrSO_4 существенно не различалась, составляя $0,038 \pm 0,009 \text{ ч}^{-1}$ и $0,037 \pm 0,017 \text{ ч}^{-1}$ соответственно. Однако по сравнению со стандартными условиями урожай клеток при выращивании с твердым акцептором был на порядок ниже.

Для оценки возможной геохимической деятельности *Thermodesulfovibrio* мы исследовали осадки, образованные штаммом V2 на среде Видделя с добавлением SrSO_4 . Осадки собирали в различные временные периоды (8 и 18 суток культивирования). Осадок, собранный после 18 суток культивирования штамма V2, и химический контроль без клеток, полученный в аналогичных условиях, изучали материалоевческими методами.

Как показали результаты рентгеновского дифракционного анализа, штамм V2 не образует биогенных кристаллических сульфидов стронция. Среди кристаллических фаз отмечены виллиомит и корунд. Сульфат стронция (целестин) сохранялся в кристаллическом виде как в контроле, так в эксперименте с клетками штамма V2. Для количественного исследования мобилизации Sr^{2+} из малорастворимого сульфата планируется эксперимент с параллельным химическим анализом культуральной среды на содержание растворенного стронция методом ICP-MS.

Таким образом, в данной работе был изучен рост штамма *Thermodesulfovibrio* sp. V2 с использованием малорастворимого сульфата стронция (SrSO_4). Выявлено, что штамм растет стабильно, с образованием сероводорода и, следовательно, использует SrSO_4 в качестве единственного источника сульфата. Была построена кривая роста штамма и кривая прироста сероводорода в присутствии SrSO_4 . Удельная скорость роста штамма в указанных условиях составила $0,037 \pm 0,017 \text{ ч}^{-1}$ и была близка к скорости роста на полной среде Видделя.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Ю. А. Франк

Роль барбариса в формировании популяции *Puccinia graminis* в условиях лесостепи Приобья

С. И. Конькова, Е. С. Сколотнева
Новосибирский государственный университет

Стеблевая ржавчина ежегодно приводит к значительным потерям урожая пшеницы во всем мире с превалированием в странах с субтропическим климатом. Однако в последние годы фитосанитарная ситуация обострилась и в Западной Сибири: в различных областях региона эпифитотийное развитие стеблевой ржавчины на производственных посевах пшеницы отмечалось регулярно с 2009 года (Шаманин и др., 2015).

Возбудитель стеблевой ржавчины — паразитический биотрофный гриб *Puccinia graminis*, имеющий сложный жизненный цикл со сменой хозяев: половой процесс протекает на барбарисе (*Berberis vulgaris*), а бесполой — на культурных и дикорастущих злаках. Дивергенция по растению-хозяину привела к образованию специальных форм: *P. graminis* f. sp. *tritici* (пшеничная форма), f. sp. *avenae* (овсяная форма), f. sp. *dactyli* (пырейная форма) и др. (Наумов, 1939).

Цель работы — установить роль барбариса в формировании популяции *P. graminis* в условиях лесостепи Приобья.

Изучены образцы спор *P. graminis*, собранные в 2016–2017 гг. с барбариса в радиусе 10–30 км от полей ВАСХНИЛ. В лабораторных условиях было проведено искусственное инокулирование спорами различных генотипов: пырея и восприимчивых к стеблевой ржавчине сортов пшеницы, ржи, ячменя, овса.

Культурные злаки оказались невосприимчивы к заражению спорами популяции *P. graminis*, что указывает на вероятность превалирования в регионе пырейной формы гриба. Отмечено одновременное развитие симптомов болезни на барбарисе и пшенице, что хронологически не соответствует последовательным стадиям жизненного цикла *P. graminis* f.sp. *tritici*. В то же время на дикорастущих злаках, наблюдаемых в окрестностях барбарисовых посадок, летнее спороношение гриба появилось после созревания полового спороношения на барбарисе.

В лесостепи Приобья полный жизненный цикл с половым размножением реализуется специальной формой *P. graminis*, поражающей дикорастущие злаки, но не культурные растения. Популяция пшеничной формы стеблевой ржавчины, вероятно, имеет заносное происхождение.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований в рамках научного проекта № 17-29-08018.

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

Оценка численности и разнообразия почвенной мезофауны Октябрьского района Приморского края

В. А. Короленя

Новосибирский государственный университет

Почва — важнейшая часть наземных экосистем, естественных и антропогенных. За счет почвы как плодородного слоя земной коры, человечество получает продовольственные и промышленные ресурсы. Многие животные используют почву как среду обитания, поэтому они могут выступать индикаторами благосостояния почвы и, следовательно, всего сообщества.

Сбор материалов осуществлен в период с 15 июля по 11 августа 2017 года в различных биотопах Приморского края Октябрьского района: дубрава на склоне сопки, лиственный лес, обрывистый берег, территории с высокой антропогенной нагрузкой — участок возле сточной канавы и участок возле отопительной станции.

Всего собрано 183 особи, которые относятся к отрядам Coleoptera, Isopoda, Dermatoptera, Lithobiomorpha и подотрядам Lumbricina и Pupillina. Наибольшую долю в сборах составляют представители подотряда Lumbricina (68,6 %), отряда Lithobiomorpha (13 %) и подотряда Pupillina (10,7 %), их обилие является показателем сильной увлажненности почв после дождей.

Полярные результаты оценки почвенной мезофауны были зафиксированы на участках с высокой антропогенной нагрузкой. На участке возле сточной канавы были найдены представители всех шести таксонов — всего 73 особи. Из-за близости канавы с огородом участок получает мощный приток органических и минеральных удобрений, что обеспечивает почвенных обитателей ресурсами.

Однако, сборы с участка возле отопительной станции характеризуются наименьшим разнообразием из всех исследованных площадок — всего два представителя из одного отряда Coleoptera. Это объясняется повышенной кислотностью почвы из-за выброса окислов серы, а также сильным загрязнением тяжелыми металлами.

Научный руководитель — К. А. Белова

**Получение новых данных по числам хромосом
для двух видов рода *Heteropappus***

А. Л. Коростелёва, Д. Д. Куваева

Новосибирский государственный университет,
Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск

Изучение хромосомного набора для большинства дикорастущих видов растений имеет большее значение, так как полученные данные вносят существенный вклад в определение генетического критерия вида.

Объектами нашего исследования были выбраны два вида рода *Heteropappus* (вид *H. biennis* (Ledeb.) Tamamsh. ex Grub. и вид *H. altaicus* (Willd.) Novopokr.). Материалы для исследования, предоставленные научным руководителем, были взяты из девяти природных популяций разных точек ареала: Республики Хакасия (по материалам данной популяции было сделано более 20 препаратов), Республики Тува (31 препарат для двух популяций), Иркутской области (24 препарата для трех популяций), Забайкалья (5 препаратов для одной популяции), а также из Монголии (9 препаратов для двух популяций). Гербарные образцы хранятся в фондах ЦСБС СО РАН (NS). При обработке материалов использовалась стандартная методика приготовления временных давленных препаратов для подсчета хромосом растений. Для исследования и фотографирования препаратов использовались комплекс ввода и анализа изображений фирмы Carl Zeiss MicroImaging GmbH, включающий световой микроскоп Axioskop-40, видеокамера AxioCam MRc5 и морфометрическое программное обеспечение AxioVision 4.6 в центре коллективного пользования ЦСБС СО РАН.

Для изученных популяций *H. biennis* полученные результаты совпали с уже имеющимися литературными данными по Красноярскому краю и Республике Тува, для *H. altaicus* — с уже имеющимися литературными данными по Республике Тува, Иркутской области (для одной популяции) и Монголии (для одной популяции). Было подтверждено, что диплоидный набор *H. biennis* составляет 18 хромосом ($2n = 18$), гаплоидный набор ($n = 9$). Хромосомы диплоидного набора определялись преимущественно на стадии анафазы, гаплоидный набор подсчитывался на стадии телофазы, до репликации ДНК и восстановления диплоидного набора. Было подтверждено, что диплоидный набор *H. altaicus* составляет 18 хромосом ($2n = 18$), также был определен гаплоидный набор ($n = 9$) и триплоидный набор ($3n = 27$) (для одной популяции из Монголии).

Научные руководители — канд. биол. наук Е. А. Королук, А. А. Красников

**Особенности анатомического строения *Linaria debilis* К.
в связи с условиями произрастания**

К. Т. Ларичев

Новосибирский государственный университет

Все живые организмы приспосабливаются к условиям внешней среды, что выражается в их морфологии и анатомическом строении. Изучение внутривидовой изменчивости, проявляющейся в разных экологических условиях, позволяет охарактеризовать адаптивные возможности организмов.

Исследуемое растение рассмотрено как модель данной динамики. Особенности его анатомии в связи с условиями внешней среды еще очень мало изучены.

Сбор образцов для исследования проводился в период с 9.06.17 по 18.06.17. Район сбора — южный отрог Курайского хребта, Горный Алтай.

Для сравнения анатомического строения были выбраны две переменные: экспозиция склона и растительное сообщество (которых было выявлено четыре). Соответственно, сбор образцов для сравнения производился на северном, западном, восточном и южном склонах каждого из сообществ. Таким образом в районе исследования было выделено 16 типов условий произрастания.

Поперечные срезы собранных растений были исследованы с помощью светового микроскопа.

На основе распределения растений и анатомического строения их стеблей можно предположить, что *Linaria debilis* тяготеет к южным склонам, к произрастанию на черноземах и в можжевельниковых степях. На северном склоне и в скальных сообществах растения обнаружены лишь в одном месте, и они сильно угнетены. У большинства растений была обнаружена аэренхимоподобная ткань. У образцов, собранных в можжевельниковых степях, эпидерма имеет наименьшую ширину, но в целом развита лучше, чем в других местах. Проводящие пучки растений, собранных с южного склона, расположены плотнее. Можно проследить корреляцию толщины слоя хлоренхимы с мощностью энтодермы.

Таким образом, анатомические особенности вероятно связаны с условиями в которых развиваются растения.

Научный руководитель — А. Н. Трубицына

Исследование морфо-экологических параметров ротана-головешки из эвтрофированного водоема

Д. В. Лимонов

Новосибирский государственный университет

За последние годы ихтиофауна водоемов России пополнилась новыми видами рыб за счет интродукции и последующей акклиматизации. Это привело к появлению новых, более сложных биоценотических отношений и, как следствие, падению рыбопродуктивности. Очевидно, что для водоемов, подвергшихся биоинвазии, необходимо проводить мониторинг видового разнообразия сообществ и динамики популяции вида-вселенца. Одним из наиболее ярких примеров непредусмотренной биоинвазии рыб в водоемы западной части страны явилось быстрое расселение ротана-головешки (*Perccottus glenni* Dubowski, 1877), обладающего высокой пластичностью и выживаемостью, коротким жизненным циклом. Наблюдения показывают, что ротан — опасный пищевой конкурент и прямой враг другим рыбам. Цель данной работы — изучить морфо-экологические особенности ротана-головешки в пойменном водоеме реки Оби.

Отлов ротана-головешки в пойменном водоеме р. Оби в районе мясокомбината г. Барнаула проводили в середине июля в 2012–2017 гг. В качестве орудия лова использовалась жаберная сеть длиной 25 м и ячеей 25 мм. Исследование проводилось методом измерения линейных и весовых показателей, выявления возраста особей по чешуе, определения половой принадлежности, а также вычисления упитанности по Фультону и Кларк по общепринятой методике для окунеобразных.

Было отловлено 900 особей ротана-головешки (по 150 особей в год), выявлена их принадлежность к возрастным группам: в 2012–2014 гг. — 2+, 3+, 4+, с 2015 года попадались особи 5+ и 6+. Соотношение полов близко 1:1. Полученные средние значения коэффициента упитанности по Фультону: 2012 г. — 3,21, 2013 г. — 3,8, 2014 г. — 3,65, 2015 г. — 2,87, 2016 г. — 2,63, 2017 г. — 2,72. Средние значения коэффициента упитанности по Кларк особей в районе мясокомбината г. Барнаула в сравнении с литературными данными значительно выше, чем для Московской области (2,03) и естественного ареала — бассейна р. Амур, оз. Чныррахское (2,01): 2012 г. — 2,76, 2013 г. — 3,28, 2014 г. — 3,12, 2015 г. — 2,5, 2016 г. — 2,27, 2017 г. — 2,33.

Научный руководитель — М. М. Соловьев

Исследование эффективности ловушек Мерики (желтые чаши) для сбора насекомых отряда Hymenoptera

Н. О. Москаленко

Новосибирский государственный университет

В условиях общемировой глобализации мира, повсеместного развития технологий и неконтролируемого роста населения естественные экосистемы подвергаются пагубному антропологическому воздействию, а искусственные экосистемы становятся еще более неустойчивыми и зависимыми от природных.

Объектом исследования являются представители отряда Hymenoptera, в особенности семейство пчелы (Apidae), которое составляет заметный сегмент наземной биоты. Поиск и изучение инструментов, позволяющих с высокой точностью описать видовое разнообразие на изучаемой территории, а также минимально зависящих от человеческого фактора и случайных событий. Одним из таких методов является сбор насекомых при помощи ловушек Мерики (pan trap).

Целью работы является изучение применения данного вида ловушек для ловли насекомых из отряда Hymenoptera, принципов ее работы и устройства; анализ эффективности данного метода.

Ловушки представляют собой желтые пластиковые чаши глубиной 5 см и диаметром 13 см, наполненные водой с добавлением мыльного средства. Время действия ловушек — 13 часов, с 7:00 до 20:00 ежедневно. Каждый вечер проводился сбор улова из ловушек и его первичная обработка в полевых условиях, дальнейшие же исследования были сделаны в лаборатории.

В ходе проведенной работы был сделан вывод, что ловушки Мерики эффективны для сбора больших количеств представителей Hymenoptera. Данный вид ловушек является полезным инструментом для пассивного сбора пчел в естественных ландшафтах. Важно отметить, что следует учитывать некоторые факторы: 1) наличие или отсутствие фонового цветения растений; 2) использование ловушек нескольких цветов; 3) сезонные явления природы.

Также для определения точного видового разнообразия стоит применять ловушки на данной территории не единожды, а повторять исследование на протяжении нескольких сезонов с дополнительными сборами (в том числе активным способом).

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

Циркуляция вирусов гриппа у диких птиц северо-западного Прикаспия

Т. А. Мурашкина

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала,
Федеральный исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины, г. Новосибирск

Вирус гриппа птиц является одним из самых распространенных патогенов, поражающих широкий круг хозяев. Дикие птицы отрядов Anseriformes и Charadriiformes образуют естественный резервуар вируса гриппа в природе, из которого может происходить трансмиссия к другим хозяевам.

На территории Дагестана и приграничных районов Чеченской Республики и Калмыкии выделено 22 достаточно хорошо изученных водно-болотных угодья. В настоящее время регулярных исследований циркуляции вируса гриппа у диких птиц в этом регионе не проводилось. Проведя анализ данных по распространению водоплавающих перелетных птиц северо-западного Прикаспия, были выбраны четыре места сбора материала от: озеро Аджи (Папас); озеро Южный Аграхан; Аграханский залив и дельта реки Терек (Северный Аграхан); Ачикольская система озер. В осенний период был осуществлен сбор клоакальных мазков от 184 птиц 16 видов, принадлежащих к пяти отрядам (гусеобразные, ржанкообразные, пеликанообразные, аистообразные, журавлеобразные).

В результате исследования было выделено 23 изолята гемагглютинирующих вирусов от пяти видов птиц. Все вирусы были выделены от птиц, относящихся к отряду гусеобразные, за исключением одного изолята, выделенного от лысухи (отряд журавлеобразные). При этом 16 изолятов (69,7 %) были выделены от чирка-свистунка, 4 изолята (17,4 %) выделено от чирка-трескунка, 1 изолят (4,3 %) — от красноголового нырка, 1 изолят (4,3 %) — от серой утки.

Из 23 положительных проб, генетический материал вируса гриппа А был выявлен в 10 образцах. Таким образом, процент выделения вируса гриппа от диких перелетных птиц на территории республики Дагестан в осенний период составил в целом 5,4 %. Субтипирование с помощью секвенирования показало, что все изоляты вируса гриппа типа А относятся к H3N8 субтипу.

Дальнейший мониторинг необходим для исследования роли северо-западного Прикаспия в персистенции вирусов гриппа птиц, их эволюции и географическом распространении на территории Евразии.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-01919.

Научные руководители — канд. биол. наук Алексеев А. Ю.,
канд. биол. наук Гаджиев А. А.

Функциональная морфология половой системы самцов спирулы (Cephalopoda: Spirulida)

А. А. Новиков, А. В. Голиков

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Spirula spirula Linnaeus, 1758 — единственный вид отряда Spirulida. Распространен в мезопелагиали субтропических и тропических вод Атлантики и Индовестпакифики, но раковины погибших спирул выносит на берег до субарктической Канады на севере. Материал — самец спирулы, выловленный в рейсе № 17 НИС «Витязь» 20.11.1978 г. креветочным тралом на глубине 900–950 м в Мозамбикском проливе (20°48'S — 35°56'E) Индийского океана.

Репродуктивная система спирулы имеет типичное для колеоидных Cephalopoda строение: непарный семенник и СКО, устроенный по «декаподному» плану. Но расположение репродуктивной системы в мантийной полости значительно отличается от других цефалопод. Семенник и СКО располагаются в задней части мантийной полости соответственно справа и слева от главной оси тела. Их симметричное латеральное оттеснение производит эндогастрическая спиральная раковина, вследствие чего возникает своеобразная компактизация внутренностного мешка спирулы. При этом семенник сообщается с СКО необычно вытянутым целомодуктом (половой воронкой), проходящим через полость внутри первого оборота раковины, через который зрелые спермии доставляются к сперматофорной железе для их упаковки в сперматофоры. Последние являются одними из наиболее крупных среди десятируких головоногих моллюсков и составляют около 30 % к ДМ, и по этому показателю уступают только сперматофорам Sepioida, длина которых достигает 50 % к ДМ. Возможно, процесс продуцирования сперматофоров у спирулы идет по пути постепенного уменьшения количества запакowanego полового продукта в семенных резервуарах с целью увеличения продолжительности половозрелого периода онтогенеза. Это приспособление возникло на фоне своеобразной биологии и низкой численности.

Репродуктивная система самцов спирулы демонстрирует черты высокой специализации (уникальная топография, длинный целомодукт, протяженный экономичный сперматофорогенез), возникшей в ходе эволюции соотношения висцерального мешка и эндогастрической спиральной раковины.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Р. М. Сабиров

Морфометрическая характеристика популяции лотоса Комарова вблизи Хабаровска (Дальний Восток России)

А. А. Нуяндина

Тихоокеанский государственный университет, г. Хабаровск

Цель исследований — оценить состояние популяции охраняемого вида лотоса Комарова (*Nelumbo komarovii* Grossh., Nelumbonaceae) по морфометрическим характеристикам. Наблюдения проводились в локальной популяции вида на искусственном водохранилище вблизи Хабаровска в июне-октябре 2016 года. Описывались на пробной площадке 10 кв. м проективное покрытие заросли, число плавающих и надводных листьев, бутонов, цветков, плодов, размеры листьев и орешков. Листовой индекс, процент семенификации. Подсчитаны: M — среднее арифметическое, m — его ошибка, V — коэффициент вариации.

Проективное покрытие исследованной популяции лотоса примерно 80–100%. Листовой индекс популяции (отношение общей площади листьев растений к площади обитания) — $1,8 \text{ м}^2$. Число надводных листьев ($85 \pm 0,152$ шт.) превышает число плавающих ($73 \pm 0,052$ шт.), что считается признаком благополучия популяции лотоса. Нами отмечено примерно одинаковое количество бутонов ($27 \pm 0,132$ шт.), цветков ($34 \pm 0,027$ шт.), плодов ($25 \pm 0,198$ шт.). Это также показатель благополучия популяции лотоса Комарова, свидетельствующего о сомкнутости зарослей и нормальном прохождении особями генеративной фазы онтогенеза.

Выявлено, что число гнезд (семязачатков) — 28 шт. на плод (коэффициент вариации ~ 14 %). Однако процент семенификации небольшой — 28 %, число вызревших семян на плод достигает в среднем 7 шт. Встречаются плоды либо совсем пустые, либо заполненные наполовину, либо полные орешками (коэффициент вариации низкий — 14 %). При этом между количеством вызревших орешков и размером плода корреляции нет.

Результаты исследования рекомендовано использовать в качестве экспресс-метода оценки популяций лотоса Комарова при проведении мониторинга на территориях его местообитания.

Научные руководители — д-р биол. наук, доцент Д. Ю. Цыренова,
канд. биол. наук, доцент А. Ф. Дулин

Особенности анатомического строения стебля *Patrinia intermedia* Roem. Et Schult в связи с условиями произрастания

К. В. Одаренко

Новосибирский государственный университет

Мы поставили своей целью выявить, существует ли зависимость между местом произрастания и анатомическим строением стебля *Patrinia intermedia*. Исследования проводились в высокогорьях Алтая, на Южном отроге Курайского хребта. Нами были выявлены области распространения *P. intermedia* в районе исследования, проанализированы анатомическое строение стебля растений, произрастающих в данной местности.

Мы считаем экспозицию склонов и тип сообществ признаками, которые определяют разницу в проявлении факторов в совокупности. *P. intermedia* широко распространена на всех экспозициях склонов за исключением северной. Выделено основные четыре типа сообществ: крупнодерновинная петрофитная степь с доминированием *Heterotrichon desertorum* на скальном выходе, петрофитный вариант полидоминантно-злаковой мелкодерновинной степи на горном варианте южного чернозема, можжевельниковая степь с *Juniperus sabina* на сформированной можжевельником почве, полынно-осоково-злаковая степь на защепенных вариантах каштановых почв, каменных осыпях.

У растений на скальном выходе наблюдаются плотные проводящие пучки. Вероятно, это связано с более суровыми, чем на других почвах, условиями. У растений, произрастающих в можжевельниковых степях, слой либриформа, первичная кора, хлоренхима получили относительно наибольшее развитие. Яркая выраженность хлоренхимы и развитие первичной коры у *P. intermedia* в можжевельниковых степях может быть связано с недостаточной ассимилирующей функцией листьев в условиях затененности. Мощный слой либриформа у образцов с можжевельниковых степей возможно появляется из-за отсутствия необходимости в развитой сосудистой системе. На западном склоне в большей степени, чем на восточном выражен либриформ, более толстая ксилема, более плотные пучки.

1. Положий А. В., Выдрина С. Н., Курбатский В. И. и др. Флора Сибири. Т. 12: Solanaceae — Lobeliaceae. Новосибирск: Наука, 1996. 208 с.

2. Бабаи Т. А., Перельсон М. Е. Количественное определение агликона суммы патринозидов в корнях патринии средней // Химия природных соединений. 1982. № 5. С. 612–624.

3. *Телятьев В. В.* Целебные клады Центральной Сибири. Иркутск: Восточн.-Сиб. кн. изд-во, 1976. 451 с.

4. *Горбатова О. Н.* Атлас Алтайского края. Барнаул: НИИГП, 1998. 53 с.

5. *Куминова А. В.* Растительный покров Алтая. Новосибирск: СО АН СССР, 1960. 456 с.

Научный руководитель — А. Н. Трубицына

**Особенности анатомии и морфологии *Potentilla bifurca* L.
в связи с условиями произрастания**

П. А. Орлова

Новосибирский государственный университет

Исследования по экологической анатомии и морфологии ведутся как по характеристике структурных адаптаций растений различных природных зон, так и по выявлению структурных особенностей видов разных местообитаний, что позволяет охарактеризовать пути адаптации в пределах рода. Изучение внутривидовой изменчивости анатомических и морфологических структур у видов, встречающихся в разных природных условиях, позволяет выявить их адаптивные возможности.

Исследование произведено с целью выявления связи между анатомией и экологией *Potentilla bifurca* L. Изучено распространение растения в степных сообществах горных склонов разных экспозиций на высоте 1500–1650 м над уровнем моря на южном отроге Курайского хребта (Горный Алтай). В результате микроскопирования поперечных срезов стеблей исследуемого растения, собранного в разных фитоценозах, выявлены особенности анатомии и морфологии стебля *Potentilla bifurca* L. в связи с условиями произрастания.

Полученные данные позволяют предположить, что особенности анатомии и морфологии *Potentilla bifurca* L. могут меняться в зависимости от нескольких экологических факторов. Особенности развития механических и фотосинтезирующих тканей различаются у растений, произрастающих на склонах разных экспозиций, а значит, преимущественно зависят от освещенности, увлажнения, направления и силы ветра. Развитость эндодермы и наличие трихом различны у особей *Potentilla bifurca* L., произрастающих в разных фитоценозах, т. е. главным образом обусловлены эдафическим фактором, так как являются аккумулятивными структурами растения. Также в ходе исследования показано, что *Potentilla bifurca* L. является тепло- и светолюбивым растением.

Научный руководитель — А. Н. Трубицына

Морфологические особенности соболя разных возрастных групп в Якутии (Северо-восточная Сибирь)

Н. Н. Осипова

Якутская государственная сельскохозяйственная академия, г. Якутск

В работе представлена возрастная изменчивость морфологических признаков соболя Якутии. Для сравнительной характеристики использовали промеры тела и черепа соболей разного возраста ($n = 4264$), полученные от охотников в зимние периоды 2002–2010 гг. и данные анализа окраски мехового покрова у соболей с известным возрастом ($n = 93$) из бассейна реки Алдан.

Изменения массы и длины тела, развитие структур черепа у соболя завершаются в возрасте 2+ лет. Тенденция увеличения средних размеров тела у самцов сохранялась до шестилетнего возраста, у самок это выражено значительно слабее. Краниальная изменчивость, также проявлялась в увеличении черепа соболей до 6–8-летнего возраста. У однолетних особей обоего пола практически все промеры черепа статистически значимо меньше, чем в более старших возрастных группах. Для сравнительного морфологического и краниологического анализа у перечисленных видов, вероятно, целесообразно использовать данные измерений зверьков не моложе 2 лет.

Известно, что морфологические изменения соболей, введенных в новые районы обитания, в основных чертах повторяют микроэволюционные преобразования вида при историческом освоении данного региона. В период наших исследований цветность шкур соболей оценивалась параллельно с полной морфофизиологической обработкой их тушек, что позволило выявить динамичное соотношение вариантов окраски в разных возрастных классах. В результате были установлены различия в окраске соболей разных возрастных групп, возраст определялся по годовым слоям в регистрирующих структурах зубов. Сравнительно светлый мех у сеголетков статистически значимо контрастировал с более темной окраской старших возрастных групп. Анализ возможных причин этого явления свидетельствует о разнонаправленном действии видовых особенностей наследования и естественного отбора на окраску мехового покрова соболя в регионе.

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

Мезоэдафон долинных ландшафтов Юго-Восточного Алтая

П. А. Ощепкова

Новосибирский государственный университет

Известно, что в почве сосредоточено от 70 до 90 % зоомассы и биоразнообразия любого ландшафта умеренного пояса (Мордкович и др., 2014). Важная биогеоценотическая роль населения почв неоднократно подчеркивалась в исследованиях степной зоны Горного Алтая (Волковинцер, 1968, Мордкович, 1977), однако зооэдафон долинных и, прежде всего, интразональных ландшафтов остается практически не изученным в этом регионе. Цель нашего исследования — выявить структуру населения беспозвоночных животных в разных ландшафтных позициях долины горной реки, соответствующих трансаккумулятивному и аккумулятивному элементам катены.

В качестве модельной была выбрана долина в среднем течении реки Тюргунь (северный отрог Курайского хребта). С 25 июня по 5 июля 2015, 2016 и 2017 гг. методом послойной выкопки и разборки проб фиксировались представители мезофауны в трех позициях долинного ландшафта: вершине склона, террасе и пойме реки. Для получения репрезентативных данных по численности и таксономическому разнообразию в каждом из исследуемых ландшафтов взяты пробы в трехкратной повторности. Площадь одной пробы — 0,0625 м².

В ходе камеральной обработки проб установлено, что в зависимости от позиции ландшафта состав мезоэдафона значительно меняется как по количеству, так и таксономическому составу беспозвоночных. Так, население поймы составило в соответствующие годы 78,7; 45,3 и 106,7 экз/м², а на вершине склона — 4,0; 22,7 и 64 экз/м². При этом таксономический спектр населения почв каждой ландшафтной позиции достоверно не меняется в зависимости от года исследования.

В почвенных сборах всех исследованных биоценозов обнаружены гусеницы бабочек сем. Noctuidae, личинки комаров-долгоножек (сем. Tipulidae), муравьи *Lasius niger*, личинки навозников рода *Aphodius*, а также жуки сем. Carabidae. Сравнительный анализ почв на одних и тех же позициях показал динамику населения в зависимости от года исследования.

Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. А. Г. Бугров

**К биологии озерного гольяна *Phoxinus phoxinus* (Pallas)
реки Синяя национального природного парка «Сиинэ» Якутии**

И. А. Петров

Северо-Восточный федеральный университет, г. Якутск

Ихтиофауна малых рек Якутии к настоящему времени слабо изучена.

Цель работы — дать научную картину о морфобиологических и экологических особенностях озерного гольяна реки Синяя национального природного парка «Сиинэ» Якутии.

Впервые провели изучение гидробиологических показателей местообитания, видовой состав рыб и особенности озерного гольяна как массового обитателя реки Синяя. Результаты исследований могут послужить основой для дальнейшего мониторинга рыб, экологического прогнозирования изменений в структуре рыбного сообщества реки охраняемой территории.

Гольяны (лат. *Phoxinus*) — род мелких пресноводных рыб семейства карповых отряда карпообразных. Важнейший источник питания для хищных рыб. В Якутии имеет некоторое промысловое значение.

По стандартным методикам (Правдина И. Ф, 1939; Кириллов А. Ф, 2002) взяты промеры промысловой длины (ad), длины по Смитту (ac), масса без порки (Q) и масса с поркой (q), определены пол и зрелость гонад.

Результаты исследований:

— на морфологию и биологический анализ взят 41 экземпляр озерного гольяна;

- наибольший вес рыбы (полного) сибирской плотвы — 270 г;
- наименьший вес рыбы (без внутренности) сибирской плотвы — 14 г;
- пол по зрелости колеблется во II–III стадии;
- наибольший вес рыбы (полного) озерного гольяна — 41 г;
- наименьший вес рыбы (без внутренности) озерного гольяна — 8 г;
- пол по зрелости колеблется во II–III стадии;
- из 41 экземпляра ♀ — 40 шт, ♂ — 1 шт. В основном преобладают самки.

Наиболее массовые виды — озерный гольян (*Phoxinus phoxinus* (Pallas)) и сибирская плотва (*Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)). Ленок, язь, щука являются единичными.

Получены сведения о морфобиологических и экологических особенностях гольяна озера реки Синяя, установлено состояние, начат систематический мониторинг этого вида.

Научный руководитель — д-р биол. наук М. М. Тяптыргянов

Пул минерального азота петрозёмов

А. Д. Прибура, Т. А. Спорыхина

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск,
Институт леса им. Н. В. Сукачева СО РАН, г. Красноярск

Азот является одним из наиболее важных элементов питания растений. Накопление азота в почве служит показателем направленности и результативности инициального почвообразовательного процесса.

Исследования проводятся на одном из рекультивированных отвалов Бородинского буроугольного разреза в Красноярском крае. Формирование отвала завершено в 2006 г. Период стабилизации породной массы составил два года. Проведено искусственное лесозарождение 2–3-летними саженцами сосны. На момент проведения исследования культуры достигли 10–11-летнего возраста. В междурядьях сформировался травянистый покров с общим проективным покрытием не менее 70–80 %.

Общий запас минерального азота ($N_{\text{мин}}$), нитратов ($N-NO_3$) и аммонийных форм ($N-NH_4$) определяли для петрозёмов, формирующихся как под рядами культур, так в междурядьях, в начале и в конце лета.

Не смотря на относительно короткий период формирования, петрозёмы на участках занятых травянистыми сообществами отличаются более высоким запасом минерального азота. Различия по запасам $N_{\text{мин}}$ составляют 25 % в начале лета, а в конце вегетационного периода наблюдается превосходство в пять раз.

В структуре запасов $N_{\text{мин}}$ петрозёмов междурядий культур преобладают нитраты, относительная доля которых составляет 55 в начале лета, увеличиваясь до 92 % в конце вегетационного периода. Петрозёмы в рядах культур отличаются более высоким относительным содержанием $N-NH_4$ (60 %) в начале вегетационного периода, к моменту его окончания доля нитратов возрастает до 56 %.

Таким образом, есть основания полагать, что процессы мобилизации азота в техногенных почвах под травянистыми и лесными сообществами имеют свою специфику. При этом данная специфика может проявляться на самых ранних этапах инициального почвообразования.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. В. Трефилова

Сравнительный морфологический и биохимический анализ жировых тканей лесных полевок

К. И. Расторгуева

Красноярский государственный педагогический университет
им. В. П. Астафьева

Хорошо известно, что таксономически близкие, обитающие на одной территории виды могут приспосабливаться к комплексу экологических факторов разными путями. Имеются сведения о том, что красная полевка (*Clethrionomys rutilus*) придерживается более энергозатратной адаптивной стратегии по сравнению с красно-серой полемкой (*Clethrionomys rufocanus*) [1]. Можно предположить, что вклад факультативного термогенеза бурого жира и, возможно, бежевых адипоцитов депо белого жира в терморегуляцию этих двух видов полевок различается. Целью работы был сравнительный морфологический и биохимический анализ бурой и белой жировых тканей у красной и красно-серой полевок.

Самцы полевок *Cl. rutilus* (n = 5) и *Cl. rufocanus* (n = 15) отловлены с помощью ловушек Геро в течение августа 2017 г. в окрестностях г. Красноярска (заповедник Столбы). Метаболическую активность жировых тканей оценивали косвенно по их цветовой гамме и по содержанию общего белка. Средняя масса тела красной полевки составила $17,4 \pm 1,10$, в группе красно-серой полевки этот показатель был выше на 20 %. Относительная масса межлопаточной бурой и паховой белой жировых тканей не различалась, составив около 0,22 % и 0,33 % соответственно. Темные оттенки цвета жировых тканей указывали на повышенный митохондриогенез [2]. Содержание белка в буром жире составляло $145,93 \pm 17,84$ и $79,91 \pm 20,10$ мкг/мг для красно-серой полевки и красной полевки соответственно. Содержание общего белка в паховом жире полевок обоих видов не различалось и составляло около 30 мкг/мг, что соответствует повышенной метаболической активности этого депо [2].

В дальнейшем планируется провести более тщательный количественный анализ анатомического распределения скоплений бурого жира и иммунохимическую идентификацию бежевой жировой ткани для более обоснованного суждения о роли факультативного термогенеза в адаптивных стратегиях изучаемых видов.

1. Башенина Н. В. Пути адаптации мышевидных грызунов М.: Наука, 1977. 354 с.

2. Kalinovich A., DeJong J, Cannon B., Nedergaard J. UCP1 in adipose tissue: two steps to full browning // Biochimie. 2017. V. 134. P. 127–137.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Е. И. Елсукова

Цестоды скальных полевок (род *Alticola*)

А. Г. Романова, Н. Н. Егорова, Н. В. Лопатина, Н. Н. Осипова
Институт естественных наук СВФУ им. М. К. Аммосова, г. Якутск,
Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск,
Якутская государственная сельскохозяйственная академия

Гельминтофауна лемминговидной полевки, как и других видов высокогорных полевок, практически не исследована, что объясняется труднодоступностью мест их обитания и обычно низкой численностью. В 2016 г. на Анюйском хребте нами было отловлено 22 особи лемминговидной полевки, зараженные пятью видами гельминтов. По экстенсивности заражения доминировали цестоды рода *Arostrilepis* (сем. Hymenolepididae) (ЭИ = 31,0 %). Интенсивность инвазии составила от 1 до 7 со средним значением 3,1 на одно зараженное животное.

Найденные экземпляры отличаются по ряду морфологических признаков от известных видов и предположительно представляют собой самостоятельную таксономическую единицу. По нашим данным, для скальных полевок не характерно заражение гименолепидидными цестодами. Ранее, при исследовании гельминтофауны скальных полевок нами были найдены цестоды лишь у пяти видов хозяев — *A. semicanus*, *A. strelzowi*, *A. macrotis*, *A. olchonensis*. В основном они были заражены цестодами, относящимися к двум семействам, — Anoplocephalidae и Catenotaeniidae (различные представители родов *Anoplocephaloides*, *Paranoplocephala*, *Microticola* и *Catenotaenia*). Паразитирование цестод сем. Hymenolepididae ранее было установлено лишь у *A. argentatus* (Киргизия) и у *A. lemmings* из других местообитаний на северо-востоке Якутии (Губанов, Федоров, 1970; Якушевич и др., 1972). Данные виды хозяев относят к разным под родам — *Aschizomys* и *Alticola*. Нами предполагается, что значительный вклад в паразитировании гименолепидид у лемминговидной и серебристой полевок вносят именно экологические условия обитания последних. Вероятно, особенности местообитаний, подходящие этим видам, позволяют существовать там инвазионному звену — промежуточным хозяевам. Известно, что в условиях крайнего Севера гименолепидиды используют коллембол в качестве промежуточных хозяев.

Научные руководители — канд. биол. наук А. В. Кривопапов,
канд. биол. наук Е. С. Захаров

**Распространение чужеродного вида растения
циклахены дурнишниковидной на территории г. Горняк
(Алтайский край, Локтевский район)**

Д. А. Руль

Новосибирский государственный аграрный университет

На территории Алтайского края отмечается активная инвазия чужеродного вида растения циклахены дурнишниковидной. Согласно Черной книге флоры Сибири данный вид растения является чужеродным и относится к опасным инвазионным видам. Он имеет ряд негативных особенностей: вытеснение местных видов; содержание ингибиторов; не поедание животными; снижение качества животноводческих кормов; вызывание аллергии у человека в период цветения растения. Кроме того, циклахена хорошо гибридизируется с местными видами, изменяя генетическое разнообразие растительных сообществ. Поэтому исследование темпов распространения данного вида на территории Алтайского края актуально.

Объект исследования — *Cyclachaena xanthiifolia* (Nutt.) Fresen.

Предмет исследования — процессы инвазии и натурализации данного вида в растительное сообщество.

Цель исследования — изучение биологических особенностей чужеродного вида и поиск путей сдерживания распространения.

Методы исследования — маршрутные и стационарные полевые исследования, полевые опыты, метод пробных площадок, метод статистической обработки данных.

Основные результаты и выводы

1. Инвазия и натурализация растения в местные условия увеличивается на 3 % в год. Вид является постоянным.

2. Доля вида в растительном сообществе за три месяца увеличилась на 26 %. Данные по популяционным характеристикам высоки.

3. Проведены меры борьбы с распространением циклахены: скашивание, корчевание, обработка гербицидами. Максимальный эффект показал химический метод — обработка гербицидами Агрокиллером и Глифосом. Погибло до 91 % растений.

1. Виноградова Ю. К. Черная книга флоры Сибири / Ю. К. Виноградова, А. Н. Куприянов. Новосибирск, 2016. 439 с.

Научные руководители — канд. с.-х. наук, доцент Н. В. Пономаренко,
О. А. Дреер

Морфологические исследования ленков р. Brachymystax из водоемов Якутии

А. А. Степанова, Л. П. Слепцова

Институт естественных наук СВФУ им. М. К. Аммосова, г. Якутск,
Якутская государственная сельскохозяйственная академия, г. Якутск

Республика Саха-Якутия занимает одно из первых мест в стране по водным ресурсам. В республике протекают одни из самых крупных рек Евразии: Лена, Колыма, Индигирка. Большая часть видов рыб, обитающих в водоемах Якутии, относятся к семейству сиговых Coregonidae и лососевых Salmonidae рыб. В составе семейства Salmonidae выделен отдельный род *Brachymystax*, который включает два вида: острорылый ленок *Brachymystax lenok Pallas* (1773) и тупорылый *Brachymystax tumensis* Mori, 1930. В водоемах Якутии обитают оба этих вида.

В конце прошлого десятилетия была предложена методика, позволяющая проводить сравнительные морфологические работы на основе цифровой фотографии рыб (Бочкарев, Зуйкова, 2007). Согласно этой методике нами были промерены ленки из некоторых рек Якутии — Оленек, Тумара, Алдан, Яна. На основе промеров мы сравнили выборки по средним арифметическим с помощью критерия «t» Стьюдента, а также применяя метод главных компонент. Все выборки ленков хорошо различаются между собой. При сравнении ленков *Brachymystax lenok* из разных популяций выявились различия по 11 признакам (без 5 %). Межвидовые сравнения показали, что при сравнении выборки острорылых ленков из р. Оленек с выборкой тупорылых ленков из р. Тумара мы получили различия по 15 признакам, тогда как аналогичное сравнение тупорылых ленков с острорылыми ленками из р. Алдан показали достоверные различия по 9 признакам. Основные различия между ленками различных видов приходятся на признаки, связанные с расстояниями от кончика рыла до плавников, и признаков головы. При сравнении тупорылых ленков из р. Тумара с острорылыми ленками р. Алдан (вероятнее всего генеративно происходящими из р. Томпо) значительных различий по признакам головы не обнаружено. Относительное сходство формы тела острорылых ленков из р. Алдан с тупорылыми ленками р. Тумара можно объяснить только общим географическим районом их обитания, тогда как р. Оленек значительно отличается от рек бассейна р. Алдан стекающих с Верхоянского нагорья.

Научные руководители — канд. биол. наук Н. А. Бочкарев,
канд. биол. наук Е. С. Захаров

**Морфология и систематика вымерших коралловых полипов
подкласса Tabulata из среднего девона**

П. П. Солодков

Новосибирский государственный университет

Первые представители подкласса Tabulata известны из отложений нижнего ордовика Южной Сибири и Северной Америки. На силур и девон падает эпоха расцвета этих кораллов. В начале триаса последние представители из отряда Favositida полностью вымерли.

В период среднего девона табуляты активно участвовали в образовании подводных колоний. Благодаря своему карбонатному скелету они очень хорошо сохранились в различных породах, что позволяет определить их морфологию и составить классификацию.

Tabulata — один из подклассов Anthozoa, поэтому основные элементы их морфологии являются общими для всех коралловых полипов. Их специфичными чертами являются: колониальная организация, возникновение, приспособлений для связи внутренних полостей кораллитов, активное развитие разнообразных по форме дний и преимущественно миниатюрные размеры скелетных элементов (Основы палеонтологии, 1962).

В практической части работы по изучению и определению видов подкласса Tabulata из разреза Б-8318, который был сделан в Малосалаиркинском карьере, расположенном на западной окраине города Гурьевска, рассмотрено более 100 шлифов, 82 из них содержали различные виды табулят. Были найдены представители этого подкласса из трех отрядов и четырех семейств, которые включают 14 видов.

По наиболее часто встречающимся видам составлена фототаблица и монографическое описание, которое включает шесть видов из двух разных отрядов, трех семейств и четырех родов: *Thamnopora alta* var. *spina* (Dubatolov, 1959); *Thamnopora beliakovi* (Dubatolov, 1951); *Alveolites acrosquamatus* (Dubatolov, 1959); *Tyrganolites tchernychevi* (Dubatolov, 1959); *Heliolites ambiguus* (Tchernychev, 1951); *Heliolites vulgaris* (Tchernychev, 1951).

Научные руководители — канд. биол. наук Н. С. Батурина,
Р. А. Хабибулина

**Структура органического вещества петрозёмов
(Бородинский угольный разрез, Красноярский край)**

Т. А. Спорыхина, А. Д. Прибура
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск,
Институт леса им. В. Н. Сукачева, г. Красноярск

На начальных этапах эволюции почва находится в определяющей зависимости от внешних факторов, накапливает биогенную энергию и вещество [1], следовательно, такие параметры как запас и структура органического вещества (ОВ) почв являются ключевыми диагностическими показателями, раскрывающими специфику инициального почвообразования.

ОВ подразделяли на две фракции: легкоминерализуемую (ЛМОВ) и стабильную. Фракция ЛМОВ представлена двумя формами: лабильной и подвижной (ПОВ). Фитодетрит, сосредоточенный на поверхности (лесная подстилка) и в толще почвы (корневая мортмасса), — лабильная форма. Органические продукты фитодетрита и гумуса, легко переходящие в растворимое состояние при последовательной экстракции водой и 0,1 n раствором щелочи, относят к ПОВ. Содержание ПОВ характеризует ближайший резерв для микробиологической трансформации и мобилизации элементов питания.

Исследуются почвы, формирующиеся под лесной растительностью культуры сосны (*Pinus sylvestris* L.), естественный осиново-березовый лес на 10- и 32-летнем отвалах соответственно (пр. пл. 1 и 2) и фоновый березняк на серой лесной почве.

Общие запасы углерода в изучаемых почв характеризуются близкими величинами: 40, 45 и 46 тС га⁻¹. В петрозёмах пр. пл. 1 и серой почве общий запас углерода в равных долях представлен стабильной и легкоминерализуемой фракциями, для почвы пр. пл. 2 отмечается значительное (75 %) преобладание ЛМОВ. Преобладающая часть ЛМОВ здесь формируется за счет подвижного гумуса молодой почвы. Следовательно, гумусовые вещества слабо закреплены почвенным поглощающим комплексом. Такие почвенные системы наименее устойчивы к изменениям окружающей среды.

1. Смагин А. В. Биоекологическое направление в почвоведении // Почвоведение. 1996. № 3. С. 298–309.

Научный руководитель — канд. биол. наук О. В. Трефилова

**Биохимические особенности древесно-кустарниковых растений
в условиях урбанизированной среды на примере города Нижневартовска**

М. Д. Ткачева

Нижневартовский государственный университет

Урбанизированная среда — одно из специфических образований, среда, которая находится в непрерывной нагрузке. Предприятия, заводы, транспорт, населенные места — это основные составляющие нагрузки на среду.

Экологическая ситуация в г. Нижневартовске является возрастающе-напряженной в связи с увеличением численности населения, строительством, неблагоприятным климатом и множеством других факторов, которые в сумме дают большую нагрузку на среду в данном городе.

Целью исследования являлось изучение биохимических особенностей деревьев и кустарников в условиях города Нижневартовска. Чтобы определить характер влияния урбанизации на биохимический состав, мною были изучены следующие параметры: содержание хлорофилла, флавонов, антоцианов и индекс азотного баланса NBI (Nitrogen Balance Index) в листьях древесно-кустарниковых растений в урбанизированной среде.

Исследования проходили в 2 этапа: 1 этап — июнь 2016 года, когда основной ареал изучения пал на центральную часть города; 2 этап — июль 2017 года, когда исследованию подверглась промышленная территория и контрольная точка, измерения проводились с помощью инновационного аппарата флавоид- и хлорофилло- метра DUALEX — 4 (Франция).

Мною получены и обработаны данные по содержанию в листьях древесно-кустарниковых растений хлорофилла, флавонов, антоцианов, значению индекса азотного баланса NBI в городе Нижневартовске во всех зонах. Результат исследования показал, что биохимические показатели варьируются во всех изученных зонах. Наибольшая нагрузка урбанизации проявилась как в промышленной зоне, так и в центральной части города.

Статистическая обработка данных показала адаптированность растений к условиям урбанизации. Промышленная зона находится под нагрузкой факторов, которые оказывают негативное влияние на экологию города.

В дальнейшем планируется выработка методов, которые будут способствовать сокращению влияния урбанизации на экологию. На сохранение целостности экологической системы города.

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Э. Р. Юмагулова

**Особенности анатомического строения
Convolvulus ammanii Desr. в связи с условиями произрастания**

А. В. Тяпкин, С. С. Сайдакова
Новосибирский государственный университет

Изучение анатомии выюнка Аммана *Convolvulus ammanii* Desr. позволяет расширить объем сведений об этом малоизученном виде и отметить консервативные и изменчивые признаки в его строении. Исследование проведено с целью выявления связи между анатомией и экологией *Convolvulus ammanii*. Для этого были выяснены особенности его распространения в районе исследования — в высокогорьях Алтая, на южных отрогах Курайского хребта. Растение встречается на склонах всех экспозиций, кроме северной, и предпочитает либо горные варианты южных черноземов, либо защебненные варианты каштановых почв. На склонах южной экспозиции выюнок Аммана был также найден в скальных сообществах. С помощью световой микроскопии было изучено анатомическое строение поперечных срезов стебля. Анализируя полученные результаты, можно сделать следующие предположения.

1. Стебель выюнка Аммана имеет вторичное строение непучкового типа, сформированного из переходного слиянием дополнительных проводящих пучков с основными.

2. Рост растений замедлен в благоприятных условиях и ускорен в неблагоприятных, что можно проиллюстрировать возрастом числа мелких одревесневших сосудов вторичной ксилемы по отношению к крупным в неблагоприятных условиях. Также уменьшение размеров и степени сгруппированности механических элементов луба может рассматриваться как свидетельство ускоренного развития.

3. Крахмалоносное влагилице менее развито у растений, растущих на каштановых почвах, что может быть связано с их ролью в осморегуляции.

4. У растений на южных склонах сильнее развиты межклетники в паренхиме, что можно объяснить их ролью в накоплении углекислого газа.

Также в ходе исследования было показано, что выюнок Аммана является свето- и теплолюбивым растением.

Таким образом, полученные данные позволяют предполагать наличие связи между анатомическим строением *Convolvulus ammanii* и условиями произрастания и ее характер.

Научный руководитель — А. Н. Трубицына

Влияние абиотических факторов на структуру сообществ зоопланктона малых озер юга Западной Сибири

Г. В. Феттер

Новосибирский государственный университет.

На территории юга Западной Сибири располагается более 20 тысяч озер, разных по происхождению, типу питания, с различной степенью солености и значением показателя pH вод. Для оценки качества воды и состояния экосистемы озер хорошо подходит зоопланктон ввиду своей высокой скорости реагирования на изменение внешних условий, выражающейся в перестройке таксономической структуры и численности планктонных сообществ, что обусловлено быстрой сменой поколений.

Цель данной работы — определить таксономическую структуру сообществ зоопланктона и выявить степень влияния абиотических факторов на ее формирование в малых озерах юга Западной Сибири. Изучение влияния различных природных факторов на зоопланктон поможет расширить знания о его биоиндикационных возможностях.

Исследованы данные по зоопланктону 46 озер из четырех природных зон: сухостепной, степной, лесостепной и подтаежной. Для дальнейшего анализа были выбраны группы Rotifera (тип), Cladocera (п/отр.) и Branchiopoda (отр.) со схожим фильтрационным типом питания. В качестве факторов среды были взяты pH и степень минерализации озер. Анализ проводился методом главных компонент с помощью программы STATISTICA 6.0 (Statsoft, USA).

Путем построения графика проекции на факторную плоскость основных факторов (pH и минерализации) и показателей численности отдельных видов выяснилось, что большая часть видов находится в отрицательной связи с показателями pH и (или) минерализации, т. е. с ростом данных показателей видовой состав зоопланктона закономерно сокращается.

Таким образом, с помощью факторного анализа удалось выявить виды, изменение численности которых однозначно зависит от значения водородного показателя и (или) минерализации среды. Изменчивость видов, которые имеют слабую зависимость от выбранных нами факторов, объясняется другими, не затронутыми в исследовании факторами.

Работа выполнена в рамках Научной программы СО РАН 134.1 и при поддержке гранта РФФИ № 17-05-00404.

Научные руководители — канд. биол. наук Н. С. Батурина,
канд. биол. наук Н. И. Ермолаева

Влияние модифицированных наноалмазов на взаимодействие гриба рода *Trichoderma* и растения

А. А. Филь, В. Ю. Шмелькова

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

Увеличение техногенной нагрузки на окружающую среду представляет серьезную экологическую проблему. Серьезная опасность в последние годы связана с широкомасштабным применением химических препаратов в земледелии и сельском хозяйстве. Многие из этих препаратов (удобрения, пестициды) являются высокотоксичными, медленно разлагаются и, как следствие, накапливаются в почве и растениях. Накопление токсичных соединений в растениях может не только вызывать в них нежелательные мутации, но и снижать пищевую ценность биомассы, которая будет представлять опасность для животных и человека. Для защиты растений от патогенов используют грибы рода *Trichoderma*, которые являются агентами биологического контроля для растений, увеличивают скорость их роста и повышают их резистентность к абиотическим стрессам. Для связывания и нейтрализации токсических соединений большой интерес представляют модифицированные наноалмазы (МНА) взрывного синтеза. Физико-химические свойства данных нанокристаллических частиц определяют их высокие адсорбционные свойства к различным соединениям биологической и небиологической природы.

Цель исследований — оценить эффект комбинированного действия МНА и метаболитов *Trichoderma asperellum* МГ 97 на ростовые процессы растений.

Объект исследования — *Avena sativa* L. Для выращивания использовали почвенный субстрат, включающий верховой и низовой торф, песок и доломитовую муку (рН 5.5–6.5; N — 30 %; P — 30 %; K — 40 %). Выращивание проводили при естественном освещении (облученность на уровне посевов — 300 мкмоль фотонов/м²с), относительной влажности 75 ± 3 % и температуре 25 ± 2 °С. Полив осуществляли отстоянной водопроводной водой, поддерживая относительную влажность почвы на уровне 60 %. Использовали МНА, полученные из взрывных наноалмазов российского производства.

Фракция МНА со средним размером кластеров в гидрозоль $d_{50} = 70,6$ нм выделена из суспензии МНА дифференциальным центрифугированием (Avanti J-E, Beckman Coulter, США). Оценка распределения размеров кластеров МНА проведена с помощью Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Англия). Сухой порошок МНА получен высушиванием выделенной фракции на ротаторном испарителе Rotavapor R-215 (Buchi, Швейцария). Ги-

дрозоль МНА с концентрацией 3 масс.% получали добавлением деионизованной воды (Milli-Q system, Millipore, США) к навеске порошка наночастиц. Метаболиты *Trichoderma asperellum* получены при глубинном культивировании микромицетов. Проращивание семян осуществляли рулонным методом. Отмечено стимулирующее влияние метаболитов грибов рода *Trichoderma* на длину надземной и корневой систем исследуемых растений. Наибольший эффект отмечен на 21 сутки развития растений.

Результаты исследований показали достоверное положительное влияние на накопление сырой биомассы растением. У растений под действием метаболитов *Trichoderma asperellum* содержание хлорофилла и желтых пигментов в расчете на сырую массу было больше по сравнению с контрольным вариантом. Под влиянием метаболитов микромицет происходило изменение соотношения форм хлорофиллов. Данные по исследованию кинетических параметров флуоресценции показали, что метаболиты *Trichoderma* не оказывали заметного влияния на скорость электронного транспорта и квантовый выход. МНА способствовали не только линейному росту растений, но и оказывали стимулирующее влияние на продуктивность растений, на кинетические параметры флуоресценции хлорофилла, что позволяет предположить, что МНА могут оказывать влияние на активность метаболических процессов растительного организма. Отмечен положительный эффект комбинированного действия МНА и метаболитов *T. asperellum* на все исследованные физиолого-морфологические и биохимические параметры растений. Под их влиянием существенно изменялась скорость электронного потока и квантовый выход. Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод, что применение метаболитов грибов рода *Trichoderma* в сочетании с наноалмазами взрывного синтеза оказывает больший положительный эффект на ростовые процессы растений. Авторы признательны Бондарю В. С., заведующему лабораторией Нанобиотехнологии и Биолюминесценции ИБФ СО РАН, за предоставление препарата МНА и полезное обсуждение полученных результатов.

Научный руководитель — д-р биол. наук Т. И. Голованова

**Демографические показатели и онтогенетическая структура
Saxifraga nelsoniana D. Don и *Saxifraga punctata* L.
в сообществах высокогорной тундры Северо-Восточной Якутии**

И. М. Шепелева

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

В период с 2015 по 2016 гг. в Оймяконском районе (Северо-Восточная Якутия) были проведены исследования двух видов камнеломок — *Saxifraga nelsoniana* и *Saxifraga punctata*. Ценопопуляции (ЦП) изучались в петрофитных сообществах и сообществах кустарничково-зеленомошной высокогорной тундры.

При изучении демографической и онтогенетической структур ЦП использовали общепринятые в популяционной биологии растений принципы и методы.

По классификации «дельта-омега» ЦП обоих видов относятся к молодым ЦП, значения Δ варьируют от 0,16 до 0,29, значения ω — от 0,46 до 0,49.

Saxifraga punctata имеет полночленный возрастной спектр, имеются все возрастные состояния от j до s . В 2015 г. в ЦП преобладают особи имматурного (im) возрастного состояния, в 2016 г. максимум приходится на молодое генеративное состояние (g^1), которое с предыдущего года увеличивается практически в 2,5 раза, также за этот период произошло уменьшение доли субсенильных (ss) особей, более чем в 5 раз. При сравнении индексов восстановления (I_v) и старения (I_s) видно, что хоть показатели и небольшие, соотношение прегенеративных особей к генеративным и постгенеративным находится в нормальном соотношении, что способствует к самоподдержанию и устойчивости ЦП.

Вид *Saxifraga nelsoniana* имеет неполночленный возрастной спектр, отсутствуют особи старого генеративного (g^3), субсенильного (ss) и сенильного (s) состояний. Преобладают особи имматурного и молодого генеративного возрастного состояния. Отсутствие старых генеративных и постгенеративных особей можно связать с условиями местообитания, характеризующихся избыточным увлажнением почвы. В данном случае избыток влаги действует как отрицательный экологический фактор, препятствующий полноценному развитию особей вида. Но все же вид выдерживает такие условия, так как наличие ювенильных и молодых вегетативных особей свидетельствует о хорошем возобновлении и высокой приживаемости молодых растений.

Научный руководитель — д-р биол. наук М. М. Черосов

Особенности обитания поденок из семейств *Heptageniidae* и *Baetidae* в реках Салаира

С. К. Ююкина

Новосибирский государственный университет

Для фауны поденок палеарктики наиболее разнообразными семействами являются *Heptageniidae*, *Baetidae*, *Ephemerellidae*, *Leptophlebiidae*, *Caenidae*. Для семейства *Baetidae* и *Heptageniidae* максимальное видовое разнообразие обусловлено широким диапазоном экологической валентности видов, поэтому данные группы представляют особый интерес для исследования.

Цель нашей работы — выявить оптимальные условия существования для видов из семейств *Heptageniidae* и *Baetidae* в водотоках Салаирского края. На основе 90 количественных проб макрозообентоса с водотоков Салаирского края определены абиотические предпочтения видов поденок. Для анализа использовались данные замеров следующих абиотических факторов: высота расположения участка русла над уровнем моря, расстояние от истока реки до мест сбора, температура воды, глубина и ширина русла, скорость течения. Определение поденок проводилось с использованием справочной литературы.

В ходе работы выявлено девять видов из семейства *Heptageniidae* и 14 видов из семейства *Baetidae*. Установлено, что расселение поденок семейства *Heptageniidae* не зависит от удаленности от истока реки, в то время как для представителей семейства *Baetidae* пик разнообразия находится в интервале 6–9 м от истока. Поденки предпочитают неглубокие водоемы: семейство *Heptageniidae* — до 0,4 м, *Baetidae* — от 0,1 до 0,3 м. Максимальное число видов семейства *Heptageniidae* отмечено при скорости течения 0,1–0,6 м/с, для семейства *Baetidae* диапазон меньше — 0,1–0,4 м/с. Максимальное число видов семейства *Baetidae* выявлено при ширине русла 2,3–4,7 м и 6–18 м. Для семейства *Heptageniidae* предпочтительна ширина водотока 6–15 м. Четкой зависимости от температуры и высоты над уровнем моря не было выявлено.

Работа проведена при поддержке гранта РФФИ 16-34-00632.

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

Oral DNA nanoparticles to prevent antibodies against FVIII

A. K. Stanova

Nazarbayev University, Astana, Kazakhstan

Hemophilia A is a bleeding disorder caused by a deficiency in coagulation factor VIII (FVIII). Current treatment involves regular lifelong infusion of recombinant or plasma-derived FVIII protein, which is suboptimal, invasive and very expensive. One of the challenges of the current therapy is the recognition of FVIII by immune system as a foreign substance in severe hemophiliac, leading to the development of neutralizing antibodies that makes further FVIII treatment ineffective. Here, we propose chitosan-mediated oral non-viral gene therapy as a potential safe and cost-effective strategy for immune modulation in severe hemophilia A cases. Our data suggest that the expression of anti-inflammatory IL-10 cytokine may modulate the immune response against FVIII protein.

We investigated the potential for immune response modulation following orally administered chitosan nanoparticles. CD-1 type mice ($n = 7$) were fed nanoparticles containing DNA coding for either hFVIII or hFVIII+IL-10 weekly for a total of twelve weeks. After four weeks of nanoparticle treatment, mice were also injected with 0.75 IU rhFVIII once a week for eight weeks while feeding of nanoparticles continued (for a total of twelve weeks). Blood plasma samples were collected after the treatment and analyzed for the presence of antibodies developed specifically against hFVIII by ELISA. As a negative control we used naïve mice ($n = 4$). As a positive control we used CD-1 type mice ($n = 4$), which were only immunized with 2.0 IU of rhFVIII. Results show that after 12 weeks of treatment the group of mice which was fed with FVIII+IL-10 DNA nanoparticles has slightly elevated anti-FVIII antibody titer, but showed only 27.85 % of the antibody titer of the group that received FVIII nanoparticles without IL-10. Neither group had detectable antibodies after receiving 4 weeks of nanoparticles treatment. Taking our results together, we can say that nanoparticles containing DNA coding for IL-10 are able to modulate immune response against FVIII effectively in a prophylactic treatment. These findings may have potential application as an immune response modulation strategy not only for rhFVIII protein, but also for other antigens.

Research supervisor — Professor Gonzalo Hortelano, PhD

Указатель авторов

Абдрашитова О. Р.	138	Григорьева Д. С.	9
Агеенко А. Б.	139	Грин И. Р.	54
Айриянц К. А.	78	Гусева Т. А.	10
Аксенова А. И.	5	Давлетшина Г. И.	41
Алахтаева Т. А.	140	Денисова Е. И.	82
Александрова А. А.	141	Дергилев А. И.	11
Алексеева С. И.	142	Держалова А. Ш.	42
Андреев М. Н.	105	Дресвянникова А. Е.	111
Антоненко А. К.	143	Дрозд У. С.	83
Арестова Н. С.	34	Егасов Р. В.	153
Астапенко Д. А.	6	Егорова А. А.	112
Бабошко Д. А.	144	Егорова В. И.	154
Байрамова Д. О.	106	Егорова Н. Н.	180
Балыбина Н. Ю.	79	Елгаева Е. Е.	12
Балык К. В.	80	Еремин Д. В.	84
Баранова Я. В.	145	Ермолов С. А.	155
Батлук У. И.	35	Ещенко Н. В.	43
Белокопытова П. С.	7	Живень М. К.	126
Бикчурина Т. И.	107	Жоров М. И.	44
Бобрикова Е. Н.	36	Жуланова К. Р.	45
Бобровских А. В.	8	Журавина М. А.	46
Бойко Е. В.	147	Замятин В. И.	13
Боковая О. В.	37	Захрямина А. Е.	47
Бондар Е. И.	14	Земерова Т. П.	48
Борисов А. М.	9	Золотенкова Е. А.	49
Борисов В.	38	Иващенко Р. Ю.	156
Буркова Е. Е.	73	Ивкина Д. И.	157
Бурняшева А. О.	81	Казанцева Н. В.	158
Вартанова В. А.	108	Калинина Т. С.	50
Варфоломеева А. С.	148	Калныня Й.	38
Васильева Д. А.	149	Каплун А. В.	51
Васиховская В. А.	39	Каримуллина И. И.	159
Виноградов Д. И.	150	Карнюшка А. А.	52
Вихорев А. В.	109	Карпушина А. А.	53
Володина Е. А.	121	Карташов М. Ю.	58
Глаголева А. Ю.	110	Каххарова З. И.	54
Голиков А. В.	170	Ким Д. В.	55
Голота О. В.	151	Кириченко А. Д.	14
Голубицкая Е. А.	40	Кислицина Н. И.	161
Гребнев Я. В.	152	Климова К. М.	162

Клопотова М. Р.	37	Москаленко Н. О.	168
Князева А. А.	56	Мунгалов Р. В.	116
Кобало Н. С.	15	Мурашкина Т. А.	169
Ковалев С. С.	16	Мухин А. М.	23
Коваленко В. Р.	135	Мягкова Н.	38
Козлова Т. А.	85	Николаева П. А.	71
Козлова Ю. Н.	37	Нихаенко В. И.	66
Колесникова А. И.	17, 18	Новиков А. А.	170
Коломейчук Л. В.	147	Новолодский И. В.	24
Колотыгин И. О.	86	Нуриддинов М. А.	25
Комарова А. О.	57	Нуштаева А. А.	53
Комлева П. Д.	87	Нуяндина А. А.	171
Кондаурова А. Ю.	88	Овечкина В. С.	117
Конончук В. В.	50	Огарков А. А.	26
Константинов Д. К.	19	Огурцова П. А.	92
Коншу Д. А.	89	Одаренко К. В.	172
Конькова С. И.	163	Орлова П. А.	174
Коржук А. В.	20	Осипова Н. Н.	153, 175, 180
Короленя В. А.	164	Ощепкова П. А.	176
Коростелёва А. Л.	165	Пасечная К. В.	93
Кривошеина Е. И.	58	Першина А. В.	94
Куваева Д. Д.	165	Петров А. В.	27
Кузина Т. С.	113	Петров И. А.	177
Кузнецов А. И.	58	Петрова Д. В.	54
Кузьмичев А. В.	21	Петрова К. О.	118
Кулешова А. Е.	59	Петрова О. М.	95
Куляшов М. А.	22	Побединцева М. А.	119
Куньк Д. А.	60	Попкова А. В.	67
Ларичев К. Т.	166	Порошина А. А.	28
Лебедев М. О.	61	Прибура А. Д.	178, 184
Леонова Э.	38	Пристяжнюк М. С.	120
Лимонов Д. В.	167	Прокопов Д. Ю.	29, 70
Лопатина Н. В.	180	Прохорова Д. В.	68
Макашева К. А.	62	Пурвиныш Л. В.	69
Маланханова Т. Б.	128	Раннева С. В.	96
Малофий М. К.	147	Расторгуева К. И.	179
Маслова Е. А.	114	Решетников В. В.	97
Матвеева А. М.	63	Розенфрид К. К.	121
Матвиенко Д. А.	115	Романова А. Г.	180
Матыцин М. Д.	90	Руль Д. А.	181
Меньщикова А. П.	91	Рыжкова А. С.	122
Меркульева Ю. А.	64	Рябушкина Ю. А.	97
Мисовец И. В.	65	Сайдакова С. С.	186

Сальников П. А.	123	Феттер Г. В.	187
Сарачаков А. Е.	70	Филь А. А.	188
Семенова С. А.	124	Фишман Д. С.	7
Серова Е. А.	71	Хозеева С. А.	132
Сизова М. А.	72	Хорошавин Ю. А.	133
Ситникова Н. А.	98	Хрущева А. С.	134
Сколотнева Е. С.	163	Худонцова А. С.	75
Скрипкин С. С.	73	Цуканов А. В.	32
Слепнева А. В.	99	Цю Юй	101
Слепцова Л. П.	182	Чадаева И. В.	30
Смирнова А. М.	126	Чалабов Ш. И.	76
Соловьева Е. И.	100	Черникова Д. С.	77
Солодков П. П.	183	Чу Вэй	102
Сорокин И. Е.	87	Шабурова Е. В.	103
Спорыхина Т. А.	178, 184	Шайхутдинова Р. В.	52
Ставицкая З. О.	74	Шарипова Д. В.	135
Стасюк А. В.	121	Шаров В. В.	14
Степанова А. А.	182	Шварцберг Ю. С.	9
Стрыгина К. В.	109	Шекунов Е. В.	104
Субботина К. В.	127	Шепелева И. М.	190
Сурумбаева А. А.	128	Шестопалов А. М.	104
Табанюхов К. А.	30	Шестопалова Л. В.	104
Тикунов А. Ю.	37	Шипова А. А.	33
Тихомирова А. Ю.	129	Шихамирова З. М.	76
Ткачева М. Д.	185	Шмелькова В. Ю.	188
Томилин М. А.	106	Шпагина Т. О.	18
Троева И. С.	149	Щелокова А. С.	136
Тюменцев М. А.	49	Юрченко К. Ю.	104
Тяпкин А. В.	186	Юшкова А. А.	137
Убогоева Е. В.	130	Ююкина С. К.	191
Устинов А. А.	153	Kabil F.	147
Федорова Ю. Е.	131	Stanova A. K.	192
Федотовская В. Д.	18		

Оглавление

БИОИНФОРМАТИКА

Аксенова А. И.	5
Астапенко Д. А.	6
Белокопытова П. С., Фишман Д. С.	7
Бобровских А. В.	8
Борисов А. М., Григорьева Д. С., Шварцберг Ю. С.	9
Гусева Т. А.	10
Дергилев А. И.	11
Елгаева Е. Е.	12
Замятин В. И.	13
Кириченко А. Д., Бондар Е. И., Шаров В. В.	14
Кобало Н. С.	15
Ковалев С. С.	16
Колесникова А. И.	17
Колесникова А. И., Федотовская В. Д., Шпагина Т. О.	18
Константинов Д. К.	19
Коржук А. В.	20
Кузьмичев А. В.	21
Куляшов М. А.	22
Мухин А. М.	23
Новолодский И. В.	24
Нуриддинов М. А.	25
Огарков А. А.	26
Петров А. В.	27
Порошина А. А.	28
Прокопов Д. Ю.	29
Табанюхов К. А., Чадаева И. В.	30
Цуканов А. В.	32
Шипова А. А.	33

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Арестова Н. С.	34
Батлук У. И.	35
Бобрикова Е. Н.	36

Боковая О. В., Клопотова М. Р., Козлова Ю. Н., Тикунов А. Ю.	37
Борисов В., Леонова Э., Калныня Й., Мягкова Н.	38
Васиховская В. А.	39
Голубицкая Е. А.	40
Давлетшина Г. И.	41
Держалова А. Ш.	42
Ещенко Н. В.	43
Жоров М. И.	44
Жуланова К. Р.	45
Журавина М. А.	46
Захрямина А. Е.	47
Земерова Т. П.	48
Золотенкова Е. А., Тюменцев М. А.	49
Калинина Т. С., Конончук В. В.	50
Каплун А. В.	51
Карнюшка А. А., Шайхутдинова Р. В.	52
Карпушина А. А., Нуштаева А. А.	53
Каххарова З. И., Петрова Д. В., Грин И. Р.	54
Ким Д. В.	55
Князева А. А.	56
Комарова А. О.	57
Кривошеина Е. И., Кузнецов А. И., Карташов М. Ю.	58
Кулешова А. Е.	59
Кунык Д. А.	60
Лебедев М. О.	61
Макашева К. А.	62
Матвеева А. М.	63
Меркульева Ю. А.	64
Мисовец И. В.	65
Нихаенко В. И.	66
Попкова А. В.	67
Прохорова Д. В.	68
Пурвиньш Л. В.	69
Сарачаков А. Е., Прокопов Д. Ю.	70
Серова Е. А., Николаева П. А.	71
Сизова М. А.	72
Скрипкин С. С., Буркова Е. Е.	73
Ставицкая З. О.	74
Худонцова А. С.	75
Чалабов Ш. И., Шихамирова З. М.	76
Черникова Д. С.	77

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Айриянц К. А.	78
Балыбина Н. Ю.	79
Балык К. В.	80
Буряшчева А. О.	81
Денисова Е. И.	82
Дрозд У. С.	83
Еремин Д. В.	84
Козлова Т. А.	85
Колотыгин И. О.	86
Комлева П. Д., Сорокин И. Е.	87
Кондаурова А. Ю.	88
Коншу Д. А.	89
Матыцин М. Д.	90
Меньщикова А. П.	91
Огурцова П. А.	92
Пасечная К. В.	93
Першина А. В.	94
Петрова О. М.	95
Раннева С. В.	96
Рябушкина Ю. А., Решетников В. В.	97
Ситникова Н. А.	98
Слепнева А. В.	99
Соловьева Е. И.	100
Цю Юй	101
Чу Вэй	102
Шабурова Е. В.	103
Шекунов Е. В., Юрченко К. Ю., Шестопалова Л. В., Шестопалов А. М.	104

ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

Андреев М. Н.	105
Байрамова Д. О., Томилин М. А.	106
Бикчурина Т. И.	107
Варганова В. А.	108
Вихорев А. В., Стрыгина К. В.	109
Глаголева А. Ю.	110
Дресвянникова А. Е.	111
Егорова А. А.	112

Кузина Т. С.	113
Маслова Е. А.	114
Матвиенко Д. А.	115
Мунгалов Р. В.	116
Овечкина В. С.	117
Петрова К. О.	118
Побединцева М. А.	119
Пристяжнюк М. С.	120
Розенфрид К. К., Володина Е. А., Стасюк А. В.	121
Рыжкова А. С.	122
Сальников П. А.	123
Семенова С. А.	124
Смирнова А. М., Живень М. К.	126
Субботина К. В.	127
Сурумбаева А. А., Маланханова Т. Б.	128
Тихомирова А. Ю.	129
Убогоева Е. В.	130
Федорова Ю. Е.	131
Хозеева С. А.	132
Хорошавин Ю. А.	133
Хрущева А. С.	134
Шарипова Д. В., Коваленко В. Р.	135
Щелокова А. С.	136
Юшкова А. А.	137

ЭКОЛОГИЯ

Абдрашитова О. Р.	138
Агеенко А. Б.	139
Алахтаева Т. А.	140
Александрова А. А.	141
Алексеева С. И.	142
Антоненко А. К.	143
Бабошко Д. А.	144
Баранова Я. В.	145
Бойко Е. В., Коломейчук Л. В., Малофий М. К., Kabil F.	147
Варфоломеева А. С.	148
Васильева Д. А., Троева И. С.	149
Виноградов Д. И.	150
Голота О. В.	151

Гребнев Я. В.	152
Егасов Р. В., Устинов А. А., Осипова Н. Н.	153
Егорова В. И.	154
Ермолов С. А.	155
Иващенко Р. Ю.	156
Ивкина Д. И.	157
Казанцева Н. В.	158
Каримуллина И. И.	159
Кислицина Н. И.	161
Климова К. М.	162
Конькова С. И., Сколотнева Е. С.	163
Короленья В. А.	164
Коростелёва А. Л., Куваева Д. Д.	165
Ларичев К. Т.	166
Лимонов Д. В.	167
Москаленко Н. О.	168
Мурашкина Т. А.	169
Новиков А. А., Голиков А. В.	170
Нуяндина А. А.	171
Одаренко К. В.	172
Орлова П. А.	174
Осипова Н. Н.	175
Ощепкова П. А.	176
Петров И. А.	177
Прибура А. Д., Спорыхина Т. А.	178
Расторгуева К. И.	179
Романова А. Г., Егорова Н. Н., Лопатина Н. В., Осипова Н. Н.	180
Руль Д. А.	181
Степанова А. А., Слепцова Л. П.	182
Солодков П. П.	183
Спорыхина Т. А., Прибура А. Д.	184
Ткачева М. Д.	185
Тяпкин А. В., Сайдакова С. С.	186
Феттер Г. В.	187
Филь А. А., Шмелькова В. Ю.	188
Шепелева И. М.	190
Ююкина С. К.	191
Stanova A. K.	192

Научное издание

МНСК-2018

БИОЛОГИЯ

Материалы
56-й Международной научной студенческой конференции

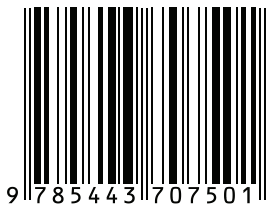
22–27 апреля 2018 г.

Корректор *Я. О. Козлова*
Верстка *А. С. Терешкиной*
Обложка *Е. В. Неклюдовой*

Подписано в печать 20.04.2018 г.
Формат 60 × 84/16 Уч.-изд. л. 12,6. Усл. печ. л. 11,7.
Тираж 100 экз. Заказ № 82.
Издательско-полиграфический центр НГУ
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Секция БИОЛОГИЯ

ISBN 978-5-4437-0750-1



N* Новосибирский
государственный
университет
***НАСТОЯЩАЯ НАУКА**

