

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение**

**Федеральный исследовательский центр**

**КРАСНОЯРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

**Обособленное подразделение**

**ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

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

**28 марта 2018 г.**

**Красноярск**

**ПРОГРАММА**  
**НАУЧНОЙ СЕССИИ МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ**  
**ИБФ СО РАН 2018 ГОДА**

**Открытие конкурса-конференции 28 марта (среда), ауд. 1-08 в 10:00**

Вступительное слово:

Председатель конкурсной комиссии, д.б.н., Надежда Николаевна Сущик

**Доклады молодых учёных (10 мин. доклад + 5 мин. вопросы):**

- |   |  |
|---|--|
| <b>Анастасия Евгеньевна Рудченко</b>  |  |
| 1 Жирнокислотный состав молоди сибирского осетра <i>Acipenser baerii</i> (Brandt, 1869), выращенной в условиях аквакультуры                   | <b>10<sup>05</sup> – 10<sup>20</sup></b> |
| <b>Наталья Александровна Оськина</b>  |  |
| 2 Действие $\gamma$ -излучения и тяжёлых металлов на покоящиеся яйца <i>Moina macroscopa</i> и параметры жизненного цикла вылупившихся рачков | <b>10<sup>20</sup> – 10<sup>35</sup></b> |
| <b>Никита Олегович Яблоков</b>  |  |
| 3 Переходные и тяжёлые металлы в двух типах скелетной мускулатуры промысловых рыб Красноярского водохранилища                                 | <b>10<sup>35</sup> – 10<sup>50</sup></b> |
| <b>Марина Дмитриевна Ларионова</b>  |  |
| 4 Люцифераза <i>MLuc7</i> как биолюминесцентный <i>in vitro</i> репортер для детекции вируса клещевого энцефалита                             | <b>10<sup>50</sup> – 11<sup>05</sup></b> |
| <b>Михаил Юрьевич Салтыков</b>  |  |
| 5 Разработка дискриминационного эксперимента для поиска наиболее адекватной многосубстратной трофической функции растений                     | <b>11<sup>05</sup> – 11<sup>20</sup></b> |
| <b>Иван Евгеньевич Банных</b>   |  |
| 6 Агентная модель роста костной ткани   | <b>11<sup>20</sup> – 11<sup>35</sup></b> |

**Подведение итогов конференции экспертной комиссией:**

д.б.н. Надежда Николаевна Сущик – Председатель

д.б.н. Александр Яковлевич Болсуновский

к.б.н. Дмитрий Владимирович Дементьев

к.б.н. Егор Сергеевич Задереев

к.б.н. Людмила Петровна Буракова

**Заключительное слово:**

Председатель конкурсной комиссии, д.б.н., Н.Н. Сущик

**Жирнокислотный состав молоди сибирского осетра *Acipenser baerii* (Brandt, 1869), выращенной в условиях аквакультуры**

*А.Е. Рудченко, науч. рук. д.б.н., проф. Н.Н. Суцук*  
*Сибирский федеральный университет*

Осетровые виды рыб традиционно считаются одними из самых ценных видов рыб для человека. В бассейне реки Енисей численность сибирского осетра ежегодно катастрофически снижается, прежде всего, из-за нерегулируемого браконьерского вылова [1]. Решением данной проблемы может быть искусственное выращивание молоди осетра и последующий её выпуск в естественную среду обитания. Успешное выращивание молоди осетра в аквакультуре во многом зависит от подбора оптимального корма, который обеспечит быстрый рост и нормальное развитие мальков [2]. Важной биохимической характеристикой корма молоди рыб является содержание полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), и в особенности докозагексаеновой кислоты (ДГК, 22:6n-3) [3], играющей решающую роль в развитии нервных тканей на постэмбриональных стадиях. В этой связи, содержание ПНЖК в корме, используемом в аквакультуре осетровых, может в значительной степени повлиять на выживание сеголеток, выпущенных в естественную среду обитания [4]. Целью данного исследования являлось изучение состава и содержания жирных кислот (ЖК) в корме и молоди сибирского осетра, выращенной в условиях аквакультуры.

Пробы молоди сибирского осетра на разных стадиях развития были собраны на Белоярском рыбном заводе ФГБУ «Енисейрыбвод», включавшие предличинки и личинок с эндогенным питанием, а также мальков и сеголеток, питавшихся коммерческим кормом фирмы Sorrens (Голландия). Исследовали состав и содержание ЖК в корме и молоди, а также определяли гепатосоматический индекс мальков и сеголеток.

В биомассе предличинки и личинки обнаружены биомаркерные ЖК, отражающие бентосные пищевые источники самок сибирского осетра из р. Енисей, у которых отбирали икру для инкубации и подращивания. Очевидно, что биохимический состав на этих стадиях определялся эндогенным питанием и включал ЖК, накопленные в желтке в процессе оогенеза. В составе корма было обнаружено относительно высокое процентное содержание мононенасыщенных ЖК, используемых, прежде всего, как источники энергии, и относительно низкое содержание ДГК, необходимой для синтеза клеточных мембран. Процент ДГК в биомассе мальков и сеголеток был достоверно выше, чем в корме. Максимальный процент ДГК (13,8 %) отмечен у сеголеток, что, вероятно, было связано с активным синтезом фосфолипидов в период роста соматических тканей. Несмотря на высокое содержание липидов в корме, абсолютное содержание ПНЖК ( $\text{мг г}^{-1}$  сырой массы), как и общее содержание липидов, в молоди падало по мере роста. Отсутствие накопления ПНЖК и ЖК в тканях мальков и сеголеток может быть связано с предпочтительным использованием липидов корма как источника энергии для ростовых процессов. Это косвенно подтверждает обнаруженное статистически достоверное увеличение гепатосоматического индекса у сеголеток осетра, указывающее на рост печёночной ткани, осуществляющей основной энергетический обмен у рыб [5].

Литература:

- [1] Gladyshev M.I., Sushchik N.N., Makhutova O.N. Prostaglandins Other Lipid Mediat; 107:117-126 (2013)
- [2] Vasconi M., Caprino F., Bellagamba F., Busetto M.L., Bernardi C., Puzzi C., Moretti V.M. Lipids; 50:283-302 (2015)
- [1] Рубан Г.И., Астраханский вестник экологического образования, №1 (31). 42-50. (2015).
- [2] Стеффенс В., М.: Агропромиздат, 384 (1985).
- [3] Гладышев М.И., Journal of Siberian Federal University, Biology, 4. 352-386 (2012).
- [4] Hauville M.R., Rhody N.R., Resley M.J., Bell J.G., Main K.L., Migaud H. Aquaculture, 446. 227–235 (2015).
- [5] Norgueira N., Fernandes I., Fernandes T., Cordeirob N., Journal of food composition and analysis, 59. 68-73 (2017).

## Действие $\gamma$ -излучения и тяжёлых металлов на покоящиеся яйца *Moina macroscopa* и параметры жизненного цикла вылупившихся рачков

Н.А. Оськина, Лопатина Т.С., науч. рук. к.б.н. Е.С. Задереев  
Институт биофизики СО РАН

Пресноводные рачки *Moina macroscopa* при ухудшении условий среды обитания производят устойчивые, к неблагоприятным условиям покоящиеся яйца. Часть покоящихся яиц накапливается в донных отложениях, образуя банк яиц. Банки яиц сохраняют способность к реактивации десятки лет. Донные отложения, также могут накапливать тяжёлые металлы и радиоактивные частицы. Однако, воздействие тяжёлых металлов и  $\gamma$ -излучения на покоящиеся яйца планктонных ракообразных изучено недостаточно.

В работе использовали покоящиеся яйца *M. macroscopa* полученные в лабораторных условиях. Исследовали устойчивость покоящихся яиц к  $\gamma$ -излучению в широком диапазоне доз облучения (до 200 Гр) и к действию тяжёлых металлов (Cu, Cd, Ni, Zn) в водном растворе (до 60-160 г/л, длительность воздействия 30 суток) и в искусственных донных отложениях (70-120 г/кг, длительность воздействия – 6-8 месяцев). После воздействия яйца промывали и помещали в культивационную среду в климатический шкаф (16 часов свет, 8 часов темнота,  $t +25^{\circ}\text{C}$ ) для реактивации. В экспериментах определяли: а) успешность реактивации яиц, б) параметры жизненного цикла вылупившихся рачков (ювенильная скорость роста, продолжительность жизни, количество и половой состав потомков).

Показано, что облучение дозами до 100 Гр не влияло на выклев рачков из покоящихся яиц. При облучении дозой 200 Гр наблюдалась 100% смертность покоящихся яиц *M. macroscopa*. На индивидуальном уровне выяснено, что параметры жизненного цикла самок, вылупившихся из яиц, облучённых дозами до 10 Гр, не зависели от дозы облучения. Самки, вылупившиеся из яиц, облучённых дозами 80 и 100 Гр, росли медленнее ( $P < 0.05$ ), и отродили меньшее количество кладок ( $P < 0.001$ ), чем самки из контрольной группы. Чистая скорость воспроизводства зависела от дозы облучения ( $p < 0.001$ ), доза при которой 50% особей не размножились составила 50 Гр.

Не обнаружено влияния тяжёлых металлов в водном растворе на выживаемость покоящихся яиц и параметры жизненного цикла вылупившихся из них рачков. При использовании искусственного грунта, длительное (8 месяцев) воздействие высоких концентраций меди (выше 34 г/кг) вызвало массовую гибель покоящихся яиц; воздействие кадмия (до 50 г/кг), никеля (до 70 г/кг) и цинка (до 120 г/кг) не оказывало влияния на всхожесть покоящихся яиц. Параметры жизненного цикла рачков, вылупившихся из выживших после нахождения в загрязнённом грунте покоящихся яиц, были сопоставимы с контролем.

В результате исследований показано, что  $\gamma$ -излучение влияет не только на выживаемость покоящихся яиц *M. macroscopa*, но и на параметры жизненного цикла, вылупившихся из облучённых яиц рачков. Тогда как тяжёлые металлы влияют на выживаемость покоящихся яиц, но не влияют на рачков, вылупившихся из яиц, сохранивших способность к реактивации. Таким образом, воздействие  $\gamma$ -излучения на индивидуальном уровне представляет большую опасность для покоящихся яиц, чем тяжёлых металлов. Максимальные концентрации тяжёлых металлов, и дозы облучения, использованные в экспериментах, крайне редко наблюдаются в природных экосистемах. Это значит, что для небольших уровней загрязнения только длительный контакт покоящихся яиц с тяжёлыми металлами и радиоактивными частицами может привести к гибели банка яиц. Можно сделать заключение, что при небольших уровнях радиоактивного загрязнения или после связывания тяжёлых металлов в недоступные комплексы, популяция ветвистоусых рачков в водоёме сможет восстановиться из устойчивого банка яиц и продолжит выполнять свою роль в водной экосистеме.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04-05199).

## **Переходные и тяжёлые металлы в двух типах скелетной мускулатуры промысловых рыб Красноярского водохранилища**

*Н.О. Яблоков, науч. рук. д.б.н., проф. В.И. Колмаков*

*Сибирский федеральный университет*

Изучение содержания химических элементов в пресноводных гидробионтах является актуальной задачей в исследованиях техногенного влияния на гидросферу. Одним из главных объектов пристального внимания экологического мониторинга стали тяжёлые металлы, которые не разлагаются в природных водах, а только изменяют формы своего существования, перераспределяясь между биотическими и абиотическими звеньями экосистемы. Среди биотических звеньев пресноводных экосистем стоит выделить сообщество рыб, т.к. рыбы, находясь на вершине трофических цепей, обладают способностью аккумулировать металлы. Кроме того, рыбы являются одним из компонентов пищевого рациона населения и избыточное содержание металлов в рыбопродуктах в конечном итоге отразится на физиологических процессах человека как потребителя продукции. С точки зрения рыбной промышленности наибольшую потребительскую ценность имеет мускулатура рыб [1]. Мышечная ткань большинства видов рыб имеет неоднородную структуру и представлена двумя или тремя типами ткани (красной, белой и розовой), различными в структурном и функциональном отношении [2]. В настоящее время информация об изменчивости концентраций металлов в разных типах мышц основана, прежде всего, на исследованиях химического состава мускулатуры морских видов рыб, составляющих основу мирового промысла (палтус, тунец и др.), в то время как пресноводные рыбы в этом отношении практически не изучены [2, 3].

Целью данного исследования было выявление общих тенденций содержания и распределения переходных и тяжёлых металлов в красной и белой мускулатуре трёх видов промысловых рыб Красноярского водохранилища.

Методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии было определено содержание 12 тяжёлых и переходных металлов в мускулатуре плотвы *Rutilus rutilus lacustris* (Pallas, 1814), леща *Abramis brama* (L., 1758) и щуки *Esox lucius* (L., 1758) из залива Убей Красноярского водохранилища.

При анализе содержания металлов у трёх изученных представителей ихтиофауны Красноярского водохранилища (ANOVA, тест Тьюки) обнаружен ряд различий. В белой мускулатуре обнаружены межвидовые различия в содержании Co, Fe, Pb, Ti, в красной – Bi, Co, Mo, Pb. Выявлены достоверные различия (t-тест,  $p < 0,05$ ) между содержанием Cu и Fe в красной и белой мускулатуре у всех исследованных видов рыб. Также отмечены различия в количестве Co и Zn в красной и белой мускулатуре у леща и щуки.

Содержание Cr, Zn и Fe в красной мускулатуре всех исследованных видов рыб характеризовалось превышением принятых в России норм для свежих рыбопродуктов [4]. Содержание в белой мышце Zn (плотва), Fe (лещ и щука) и Cr (все исследованные виды) также превышало допустимые значения.

Литература:

- [1] Castro-González M.I., Méndez-Armenta M. Environmental toxicology and pharmacology. 26 (3): 263-271 (2008)
- [2] Малькольм Лав Р. Химическая биология рыб. М.: Пищевая. промышленность (1976)
- [3] Ashoka S., Peake B.M., Bremner G., Hageman K.J. Food chemistry. 125 (2); 402-409 (2011)
- [4] Санитарные правила и нормы СанПиН 2.3.2.560-96 "Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов" (1996)

## Люцифераза *MLuc7* как биолюминесцентный *in vitro* репортер для детекции вируса клещевого энцефалита

М.Д. Ларионова, С.В. Маркова, Л.А. Франк, Е.С. Высоцкий

Институт биофизики СО РАН

Сибирский федеральный университет, ИФБиБТ,

На сегодняшний день биолюминесцентные белки считаются удобным инструментом визуализации в технологиях имиджинга, проявляя чрезвычайно высокую чувствительность в *in vitro* и *in vivo* аналитических приложениях. Целентеразин-зависимые люциферазы и фотопротейны – привлекательные репортерные молекулы благодаря кофактор-независимой реакции, широкому линейному диапазону детекции и пределу обнаружения, достигающего аттомолей.

Недавно описанная люцифераза из копеподы *Metridia longa*, *MLuc7* – естественно секретирующийся фермент, катализирующий окисление целентеразина с испусканием голубого света. *MLuc7* является наименьшей (16,5 кДа) люциферазой из всех известных на сегодняшний день, кроме того, обладает высокой удельной активностью, стабильностью, что делает ее перспективным репортером [1].

Для демонстрации нового белка в иммуноанализе была создана репортерная система для детекции вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), возбудителя тяжелейшей нейроинфекции. Методами молекулярного клонирования были созданы конструкции (Рис. 1), кодирующие фьюжн-белки в составе люциферазы и расположенного на N- или C-конце одноцепочечного миниантитела (14D5α), специфичного к гликопротеину Е белка ВКЭ [2]. Бифункциональные белки были получены путем бакуловирусной экспрессии в клетках насекомых, высокоэффективной очистки на металл-аффинной хроматографии.

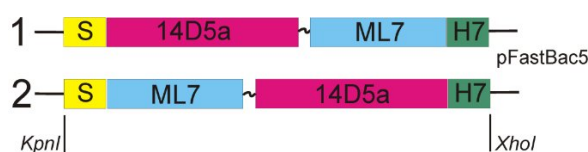


Рисунок 1. Схематическое изображение генетических конструкций в векторе pFastBac5. S – фрагмент, кодирующий сигнальный пептид, ML7, 14D5a – гены люциферазы *MLuc7* и миниантитела, соответственно, H7 – полигистидиновый участок для аффинной очистки белков

В рамках твердофазного анализа с использованием гликопротеина Е в качестве антигена была оптимизирована схема иммуноанализа. Разработанные метки демонстрировали как высокую биолюминесцентную активность, так и аффинность к антигену. Предел обнаружения антигена составил 45 пг. Один из вариантов был применен в тестировании препаратов экстрактов клещей. Полученные данные были идентичны результатам анализа, проведенного с использованием стандартного набора, применимого в санитарно-эпидемиологических службах.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Красноярского края и РФФИ №16-44-242099, гранта Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере №0019849.

Литература:

- [1] Tsekhanovskaya N.A. et al. Epitope analysis of tick-borne encephalitis (TBE) complex viruses using monoclonal antibodies to envelope glycoprotein of TBE virus (persulcatus subtype) // *Virus Res.* – 1993, 30(1): 1–16.
- [2] Markova S.V. et al. The smallest natural high-active luciferase: Cloning and characterization of novel 16.5-kDa luciferase from copepod *Metridia longa* // *BBRC.* – 2015, 457(1): 77-82.

## **Агентная модель роста костной ткани**

*И.Е. Банных, науч. рук. к.ф.-м.н. М.Ю. Салтыков*

*Институт фундаментальной биологии и биотехнологий СФУ,*

*Институт биофизики СО РАН*

Математическое и компьютерное моделирование является необходимым элементом современных естественно-научных исследований. Их использование необходимо для скорейшей проверки гипотез о процессах, протекающих в исследуемом объекте. [1] Кроме того, задача научного исследования состоит в предсказании эволюции исследуемой системы и её отклика на воздействия, что в случае сложных систем (таких как биологические) сводится фактически к построению её модели.

Актуальность моделирования роста ткани, в том числе костной, обусловлена задачами медицины и в частности биологической 3D-печати. Одним из наиболее перспективных подходов к моделированию клеточных культур является агентное моделирование. Агентные модели представляют собой ансамбль из множества взаимодействующих объектов – «агентов», количество и координаты которых в общем случае могут меняться в ходе эволюции модели. [2] Очевидно, что такой подход наиболее «естественен» для описания культуры клеток – при этом агенты являются моделями клеток.

В данной работе была построена агентная модель роста и минерализации костной ткани с помощью активных агентов и клеточных автоматов. Активные агенты проходят жизненный цикл остеобластов. Клеточные автоматы выступают в роли среды: размещают остеониды и накапливают гидроксиапатиты. [3] Симуляция имитирует движение остеобластов относительно остеобластов, формирование остеобластами остеонидов и гидроксиапатитов, ограничение перемещения остеобластов минерализованными участками. Было показано, что нормальное распределение вероятностей минерализации сохраняется в непрерывной клеточной ткани. Верификация модели была проведена по свежим литературным данным о минерализации костной ткани *in vitro*. [4]

Литература:

- [1] Brodland G. W. How computational models can help unlock biological systems. *Semin. Cell Dev. Biol.* 47–48, 62–73 (2015).
- [2] Bartocci E. & Lió P. Computational Modeling, Formal Analysis, and Tools for Systems Biology. *PLoS Comput. Biol.* 12, 1–22 (2016).
- [3] Ghiasi M. S., Chen J., Vaziri A., Rodriguez E. K. & Nazarian A. Bone fracture healing in mechanobiological modeling: A review of principles and methods. *Bone Reports* 6, 87–100 (2017).
- [4] Van Scoy G. K. et al. A cellular automata model of bone formation. *Math. Biosci.* 286, 58–64 (2017).

***Разработка дискриминационного эксперимента для поиска наиболее адекватной многосубстратной трофической функции растений***

*М.Ю. Салтыков*

*Институт биофизики СО РАН*

Для создания надёжной замкнутой экологической системы жизнеобеспечения (ЗЭ СЖО) необходима модель ЗЭ СЖО, способная предсказать её динамику с хорошей точностью. В то же время было показано что классические модели экосистем не могут корректно описывать ЗЭ СЖО, если она замкнута более чем по одному элементу [1]. Эта проблема может быть решена за счёт перехода на более сложные модели, которые было предложено назвать моделями с «гибким метаболизмом». Однако, такие модели оказались значительно более сложными, чем традиционные – на описание одного вида требуется  $N+1$  переменных (где  $N$  – число биогенных элементов, по которым была замкнута экосистема). В то же время, возможно, что для описания ЗЭ СЖО достаточно «полужёсткого» подхода в котором в рамках гибкого метаболизма описывается только один трофический уровень.

Другой проблемой моделирования ЗЭ СЖО является отсутствие общего мнения о математическом описании зависимости роста растения от концентраций субстратов (трофической функции). Экспериментальная верификация многосубстратной трофической функции требует достаточно продолжительных и дорогих экспериментов.

Данная работа посвящена:

1. Проверке гипотезы о достаточности «полужёсткого» подхода для описания ЗЭ СЖО.
2. Разработке дискриминационного эксперимента для поиска наиболее адекватной многосубстратной трофической функции растений.

Литература:

- [1] Bartsev S.I., 2004 *Advances in Space Research* 34, 7 1509–151