

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

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

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

**12 апреля 2023 г.**

Красноярск

**ПРОГРАММА**

**КОНКУРСА-КОНФЕРЕНЦИИ**  
**МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ**  
**ИНСТИТУТА БИОФИЗИКИ СО РАН 2023 ГОДА**

**Открытие конференции 12 апреля (среда), в 10:00, актовЫй зал**

Вступительное слово:

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

**ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ, посвященная Дню космонавтики**  
**«Космос, биосфера, ЗЭС и инстинкты (без шуток)»**

зав. лаб. теоретической биофизики ИБФ СО РАН, д.ф.-м.н. Сергей Игоревич Барцев

**Доклады молодых учёных:**

**Синнер Елизавета Константиновна**

- 1 Станолы в донных отложениях озера Шира как палео-индикатор фекальных загрязнений и антропогенной нагрузки **10<sup>35</sup> – 10<sup>45</sup>**

**Коновалова Ольга Вячеславовна**

- 2 Химерные белки на основе фотопротеинов акворина и митрокомина: конструирование, клонирование и свойства **10<sup>45</sup> – 10<sup>55</sup>**

**Морозова Елизавета Павловна**

- 3 Разработка латерального проточного аптасенсора для экспресс-анализа кардиомаркера тропонина I **10<sup>55</sup> – 11<sup>05</sup>**

**Бурдин Леонид Алексеевич**

- 4 Угольные макро-частицы в верхних слоях донных отложений озёр Северо-Минусинской котловины (юг Сибири) как индикатор динамики пожаров на окружающей территории **11<sup>05</sup> – 11<sup>15</sup>**

**Нур Шейла Акбар**

- 5 Сдвиг максимума спектра биолюминесценции фотопротеинов заменой консервативного изолейцина на гистидин **11<sup>15</sup> – 11<sup>25</sup>**

**Вяткина Мария Олеговна**

- 6 Получение и анализ геномных вариантов генов изоформ люциферазы *Metridia longa* **11<sup>35</sup> – 11<sup>45</sup>**

**Округина Анастасия Константиновна**

- 7 Анализ жирнокислотного состава керамических сосудов стоянки бронзового века Нижнего Приангарья **11<sup>45</sup> – 11<sup>55</sup>**

- Минаков Илья Дмитриевич**  
8 Новые для Енисея виды водных лютиков (*Ranunculus* sect. *Batrachium*,  
*Ranunculaceae*) 11<sup>55</sup> – 12<sup>05</sup>
- Коновалова Дарья Андреевна**  
9 Сезонная динамика ручейников *Apatania crymtophila* в среднем течении р.  
Енисей 12<sup>05</sup> – 12<sup>15</sup>
- Ертилецкая Наталья Леонидовна**  
10 Исследование характеристик штаммов-продуцентов молочной кислоты при  
использовании глюкозного сиропа в качестве источника углерода 12<sup>15</sup> – 12<sup>25</sup>

## КОФЕ-БРЕЙК

12<sup>30</sup> – 12<sup>45</sup>

- Бульхин Александр Олегович**  
11 Длинноцепочечные алкеноны в верхних слоях донных отложений озер  
Северо-Минусинской котловины (Южная Сибирь): значение для  
палеоклиматических реконструкций 12<sup>45</sup> – 12<sup>55</sup>
- Карузина Наталья Евгеньевна**  
12 Сравнение структурных переходов карбоксиангидразы Б под действием  
разных дестабилизирующих факторов методом время-разрешенной  
флуоресценции 12<sup>55</sup> – 13<sup>05</sup>
- Кичеева Арина Геннадьевна**  
13 Биологическая активность наночастиц оксида железа Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.  
Биолюминесцентный мониторинг 13<sup>05</sup> – 13<sup>15</sup>
- Посохина Екатерина Дмитриевна**  
14 Некоторые свойства стимулятора биолюминесценции базидиомицета  
*Neonothopanus nambi* 13<sup>15</sup> – 13<sup>25</sup>
- Машонская Юлия Олеговна**  
15 Диеты, которые не позволяют бентоядным лососевым рыбам *Thymallus*  
*baicalensis* реализовать свой потенциал по накоплению большого  
содержания омега-3 ПНЖК в мышечной ткани 13<sup>25</sup> – 13<sup>35</sup>
- Колесник Ольга Владиславовна**  
16 Радиопротекторные свойства гуминовых веществ и фуллеренола C<sub>60,70</sub> 13<sup>35</sup> – 13<sup>45</sup>
- Сапожникова Кристина Юрьевна**  
17 Биосинтез и свойства трехкомпонентных полигидроксиалканоатов,  
полученных в культуре бактерий *Cupriavidus necator* B-10646 13<sup>45</sup> – 13<sup>55</sup>
- Сушко Екатерина Сергеевна**  
18 Влияние фуллеренолов на бактериальную биолюминесценцию 13<sup>55</sup> – 14<sup>05</sup>
- Маркова Галия Муратовна**  
19 Динамические аттракторы нейронной активности у простых нейронных  
сетей 14<sup>05</sup> – 14<sup>15</sup>

**Дудаев Алексей Евгеньевич**

- 20 Нетканые наноматрицы из резорбируемых «зеленых» пластиков 14<sup>15</sup> – 14<sup>25</sup>  
полигидроксиалканоатов (ПГА) для клеточных технологий

**Селиверстова Анастасия Геннадьевна**

- 21 Исследование люциферазы Metridia как комплементационного репортера 14<sup>25</sup> – 14<sup>35</sup>  
для мониторинга белок-белковых взаимодействий в клетках

**Подведение итогов конференции конкурсной комиссией:**

д.б.н. Рогозин Денис Юрьевич – председатель  
член-корр. РАН, д.б.н. Сушик Надежда Николаевна  
к.б.н. Буракова Людмила Петровна  
к.б.н. Жила Наталья Олеговна  
к.б.н. Ларионова Марина Дмитриевна  
к.б.н. Дементьев Дмитрий Владимирович  
к.б.н. Красицкая Василиса Валерьевна

**Заключительное слово:**

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

## Станолы в донных отложениях озера Шира как палео-индикатор фекальных загрязнений и антропогенной нагрузки

Синнер Елизавета Константиновна

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Донные отложения озёр содержат биохимические маркёры антропогенного воздействия. К этим веществам относятся, в том числе, станолы – восстановленные кишечной микрофлорой формы стеролов, являющиеся индикаторами фекальных поступлений в водоём [1]. Среди всеядных человек вносит наибольший вклад в содержание копростанола в донных отложениях [2], поэтому по его количеству в них может быть реконструирована динамика населения берегов водоёмов [3]. Для определения вклада растительноядных животных в общий пул станолов исследуется распределение стигмастанола.

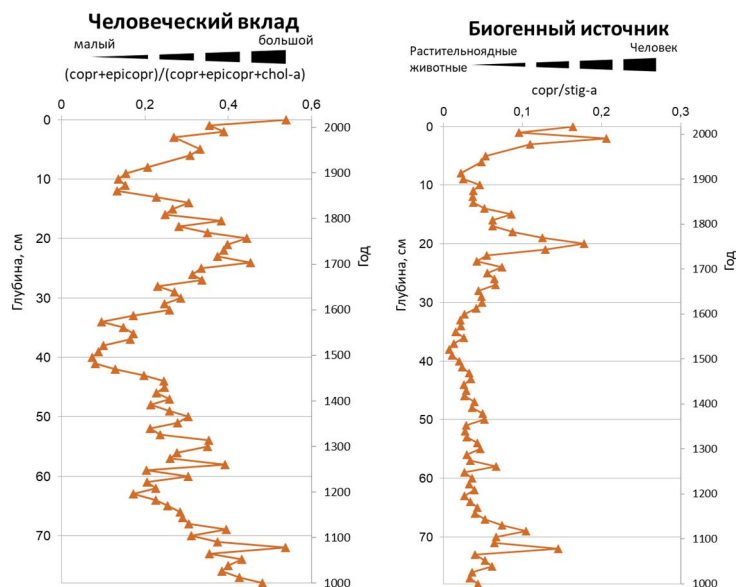


Рис. 1. Распределение станолов в керне донных отложений озера Шира: *copr* – копростанол, *epicopr* – эпикопростанол, *chol-a* – холестеранол, *stig-a* – стигмастанол.

Методом газовой хроматографии нами было оценено содержание копростанола, эпикопростанола, холестеранола и стигмастанола в датированных слоях керна донных отложений озера Шира (Хакасия). Увеличение соотношения  $\frac{copr+epicopr}{copr+epicopr+chol-a}$  свидетельствует об усилении человеческого вклада в профиль распределения станолов;  $\frac{copr}{stig-a}$  показывает доминирование источника станолов: человек или растительноядные животные [4]. Анализ полученных данных (рис. 1.) показывает увеличение человеческого присутствия в окрестностях озера в периоды: современность (популярный курорт), присоединение к России (XVII-XVIII вв.), государство Енисейских кыргызов (VI-XIII вв.).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда № 22-17-00185, <https://rscf.ru/project/22-17-00185/>. Автор благодарен Рогозину Д.Ю. за научное руководство, а также Бояндину А.Н. и Бульхину А.О. за помощь в аналитической работе.

### Литература:

- [1] White, A.J. et al. Proc Natl Acad Sci U S A, V. 116, PP. 5461–5466 (2019).
- [2] Leeming R. et al. Water Research. № 12(30). С. 2893–2900 (1996).
- [3] D’Anjou R.M. et al. Proc Natl Acad Sci U S A, V. 109, PP. 20332–20337 (2012).
- [4] Schroeter N. et al. Front. Earth Sci. 8:20 (2020).

**Химерные белки на основе фотопротеинов акворина и митрокомина: конструирование, клонирование и свойства**Коновалова Ольга Вячеславовна

Сибирский федеральный университет

Рекомбинантные  $\text{Ca}^{2+}$ -регулируемые фотопротеины гидромедуз – это устойчивый комплекс апобелка с целентеразином. Связывание ионов кальция в EF-hand петлях инициирует биолюминесцентную реакцию. К настоящему времени клонирован ряд фотопротеинов, в том числе акворин из *Aequorea victoria* (AV) и митрокомин из *Mitrocoma cellularia* (MC). Идентичность аминокислотных последовательностей акворина и митрокомина составляет около 68%. При этом они имеют отличия в удельной биолюминесцентной активности, стабильности и чувствительности к ионам кальция. Фотопротеины часто используют как маркерные молекулы, в том числе, как индикаторы кальция. На примере химерного белка «фотина» с заменой участка II EF-hand обелина на таковой клитина показана возможность получения фотопротеинов с новыми свойствами [1]. К таким белкам, как акворин и митрокомин, подобный подход еще не применялся.

Целью работы являлось создание генно-инженерных конструкций на основе акворина и митрокомина, получение высокоочищенных белков и их характеристика.

Были получены два варианта генно-инженерных конструкций для экспрессии химерных белков на основе вектора pET22b, содержащих гены акворина с заменой I EF-hand на таковой митрокомина (AVI-MCII-IV) и наоборот (MCI-AVII-IV). На базе штамма *E. coli* созданы продуценты для индуцируемой экспрессии генов, подобраны условия получения и фолдинга апобелков. Охарактеризован высокоочищенный фотопротеиновый комплекс AVI-MCII-IV, проведена сравнительная характеристика его свойств с акворинном и митрокомином дикого типа. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Свойства химерного фотопротеина.

Фотопротеин	Условия фолдинга	Выход активного белка, %	Относительная удельная активность	$K_d$ , с <sup>-1</sup>	Биолюминесценция, $\lambda_{\text{max}}$ , нм	Флуоресценция, $\lambda_{\text{max}}$ , нм	Термостабильность при 37 °С 1 ч, % от исх. акт-ти <sup>+</sup>
AVI-MCII-IV	pH 8,0; 1 М NaCl, 10 мМ ДТТ; 24 ч	100	1,99	0,92	470	470	98
MCwt	pH 7,0; 5 мМ ЭДТА; 0,2 М NaCl, 10 мМ ДТТ; 24 ч	20	1,00	1,10	473	470	79
AVwt	pH 7,0; 5 мМ ЭДТА; 10 мМ ДТТ; 24 ч	100	0,82	0,81	470	465	10

Таким образом, химерный фотопротеин AVI-MCII-IV демонстрирует большую активность и термостабильность, чем MC и AV, а также более эффективный фолдинг, чем у митрокомина. Константа спада биолюминесцентной реакции химерного белка косвенно отражает чувствительность к кальцию и показывает среднее значение между акворинном и митрокомином.

## Литература:

[1] Bovolenta S., Foti M., Lohmer S., Corazza S. Development of a  $\text{Ca}^{2+}$ -Activated Photoprotein, Photina®, and Its Application to High-Throughput Screening, J Biomol Screen, V 12, PP. 694-704 (2007).

## **Разработка латерального проточного аптасенсора для экспресс-анализа кардиомаркера тропонина I**

Морозова Елизавета Павловна

*Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН*

В случае неотложного или экстренного состояния пациента важная роль принадлежит лабораторным экспресс исследованиям. В настоящее время все более широко используется системы быстрой диагностики на месте (Point-of-Care диагностика). В отличие от тестирований в центральной лаборатории, РОС-тесты могут использоваться вне зависимости от наличия специального помещения, оборудования или специально обученного персонала для выполнения быстрого теста, необходимого в конкретный данный момент [1]. Наиболее распространенным вариантом РОС теста является метод латерального проточного иммуноанализа (иммуно-хроматографический анализ), который осуществляется при помощи тест полосок, содержащих все необходимые для анализа компоненты в готовом виде. Во время проведения анализа мишень связывается со специфическими антителами, нанесенными на тест-полоску, а также на поверхность частиц коллоидного золота. В результате их взаимодействия образуется комплекс, который обнаруживается в виде цветной линии. В то время как антитела часто обеспечивают исключительную специфичность и низкие пределы обнаружения, их высокая стоимость производства и сложность, связанная с их созданием, стимулируют значительные усилия по поиску подходящих высокоспецифичных молекул – аналогов антител.

Аптамеры – одноцепочечные ДНК или РНК олигонуклеотиды с уникальной пространственной структурой, способные специфично «узнавать» молекулу-мишень и присоединяться к ней. Благодаря их высокой аффинности, специфичности, стабильности и возможности химического синтеза и модификации различными функциональными группами, аптамеры рассматривают как перспективную альтернативу антителам в том числе и при создании биосенсоров диагностически важных маркеров.

Целью данной работы было разработать латеральный проточный анализ на основе ДНК аптамеров, пригодный для быстрого выявления кардиомаркера тропонина I. Сердечный тропонин I (сTnI) является одним из ранних высокоспецифичных маркеров, появление которого в периферической крови свидетельствует о повреждении кардиомиоцитов при инфаркте миокарда.

В качестве биоспецифичных компонентов разрабатываемого латерального сенсора использовали два специфичных и высокоаффинных к сTnI ДНК аптамера, полученные ранее в лаборатории экологических и биолюминесцентных технологий ИБФ СО РАН [2]. Для визуальной детекции результатов анализа использовали наночастицы золота (ЗНЧ). В представленной работе были получены ЗНЧ разного размера, исследованы различные способы иммобилизации аптамеров на поверхность ЗНЧ, а также на несущую нитроцеллюлозную мембрану, оптимизирован дизайн и условия латерального анализа, позволяющие выявлять сTnI в модельном образце. Показано, что при иммобилизации аптамера Apt2.4 на ЗНЧ с диаметром 30 нм в результате комплементарного взаимодействия SH-олиготимидилата на ЗНЧ и олигоаденилата в составе аптамера, разработанный вариант латерального анализа позволяет выявлять сTnI в модельной сыворотке в концентрациях от 30 нМ.

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

### Литература:

- [1] Дементьева И. И. и др. Технологии point of care в клинике неотложных состояний //Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – №. 7. – С. 5-10.
- [2] Krasitskaya V.V. et al. The Ca<sup>2+</sup>-regulated photoprotein obelin as a tool for SELEX monitoring and DNA aptamer affinity evaluation // Photochem Photobiol. – 2020. – V. 21, 1041-1046.

## Угольные макро-частицы в верхних слоях донных отложений озёр Северо-Минусинской котловины (юг Сибири) как индикатор динамики пожаров на окружающей территории

Бурдин Леонид Алексеевич

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

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

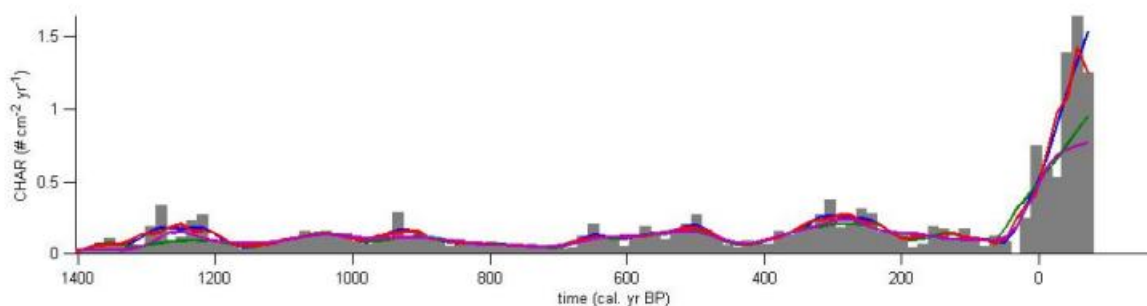


Рис. 1. Динамика потока угольных частиц размером свыше 100 мкм в донные отложения на примере оз. Шира за прошедшие около 1400 лет (за начало отсчета принят 1950 год).

Частицы древесных углей размером свыше 100 мкм в донных отложениях являются индикаторами пожаров, происходивших на прилегающей к водоему территории в несколько километров. На основе микроскопического анализа датированных слоев керна донных отложений озер юга Сибири (Хакасия) нами показано, что последние около 100 лет отличаются резким увеличением потока угольных частиц в озеро (Рис. 1). Данное увеличение согласуется с результатами по многим озерам мира и предположительно обусловлено современным усилением антропогенного воздействия, как в виде случайных и умышленных поджогов, так и в виде сжигания древесины и углей для отопления жилых домов и отдыха на прилегающей к озеру территории. Также на исследуемых озерах устанавливались седиментационные ловушки и брались пробы поверхности льда с целью анализа наличия угольных макрочастиц углей и оценки сезонной динамики поступления этих частиц в донные отложения озер. Полученные данные позволяют более точно интерпретировать распределения углистых частиц в кернах донных отложений и реконструировать динамику пожаров на юге Сибири в позднем голоцене.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда № 22-17-00185. Автор благодарен Рогозину Д.Ю. за научное руководство и помощь на всех этапах работы.

Литература:

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

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



## Сдвиг максимума спектра биолюминесценции фотопротеинов заменой консервативного изолейцина на гистидин

Нур Шейла Акбар

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, СФУ

Молекула  $\text{Ca}^{2+}$ -регулируемого фотопротеина представляет собой стабильный фермент-субстратный комплекс, состоящий из односубъединичного полипептида и «преактивированного» кислородом субстрата, 2-гидропероксицелентеразина, прочно, но нековалентно связанного с белком. Люминесценция инициируется ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и возникает вследствие окислительного декарбоксилирования связанного с белком субстрата. Переход образовавшегося целентерамида из возбужденного состояния в основное сопровождается излучением кванта света [1].

Целью этой работы является получение и исследование биолюминесцентных свойств двух фотопротеинов, обелина (OL) и акворина (AV), с заменой консервативного изолейцина на гистидин. Предполагалось, что замена Ile138 в акворине и Ile144 в обелине на гидрофильный гистидин должна привести к смещению максимума биолюминесценции этих белков в красную область спектра, так как спектр хемиллюминесценции целентеразина в полярных растворителях смещен в длинноволновую область. В случае успеха такие измененные фотопротеины можно будет применять в качестве репортеров в аналитических системах *in vitro* и *in vivo*. Необходимые замены были произведены в клонированных генах диких типов фотопротеинов методом сайт-направленного мутагенеза. Экспрессию фотопротеинов дикого типа и полученных мутантов проводили в рекомбинантных клетках *E. coli*.

Показано, что удельная биолюминесцентная активность OL I144H составила 0,42% от OL и 0,51% AV I138H от AV. Кинетика активации апофотопротеинов целентеразином показала, что эффект одинаковых замен в акворине и обелине может быть противоположным, несмотря на большую аминокислотную и структурную гомологию этих белков. Спектры биолюминесценции выделенных фотопротеинов показали, что максимум биолюминесценции AV I138H сместился на 11 нм в длинноволновую область и составил 473 нм, а OL I144H – на 26 нм и составил 503 нм (Рис. 1).

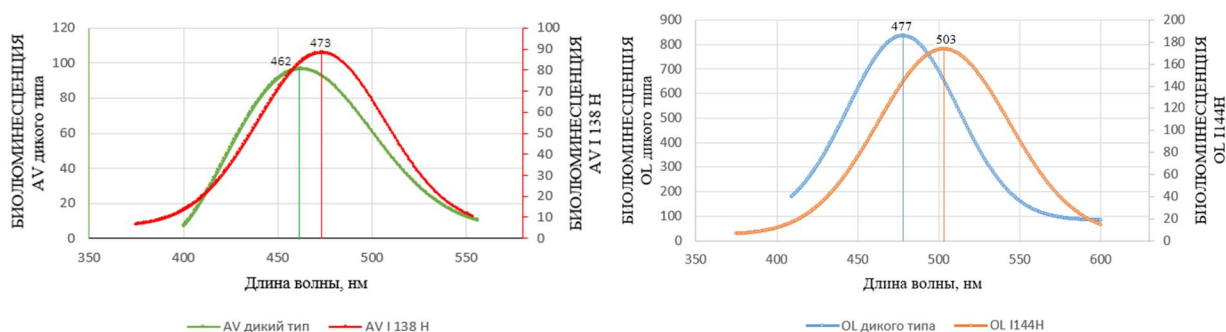


Рис. 1 – Спектры биолюминесценции диких и мутантных фотопротеинов.

Таким образом, аминокислотная замена изолейцина на гистидин приводит к сдвигу максимума биолюминесценции в красную область спектра.

Литература:

[1] Высоцкий Е. С., Маркова С. В., Франк Л. А. Кальций-регулируемые фотопротеины морских кишечнорастных // Молекулярная биология. – 2006. – Т. 40. – №. 3. – С. 404-317.

## Получение и анализ геномных вариантов генов изоформ люциферазы *Metridia longa*

Вяткина Мария Олеговна

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Сибирский федеральный университет

Ранее было идентифицировано одиннадцать кДНК генов, кодирующих четыре типа различных изоформ люциферазы *M. longa* с межгрупповую идентичность от 54% до 83% [1]. Такие существенные различия в кДНК последовательностях дают основания предполагать, что они являются продуктами неаллельных генов. Это означает, что биолюминесцентная функция копепод поддерживается по меньшей мере четырьмя парами паралогичных генов, которые развились независимо друг от друга после многократных дупликаций в геноме предкового светящегося копепода [2].

Для лучшего понимания возникновения и развития биолюминесценции копепод *M. longa* необходимо изучение геномных последовательностей, которые обеспечивают этот процесс. Интроны, подвергающиеся наибольшему эволюционным изменениям, так как не испытывают сильного давления естественного отбора для поддержания функции биолюминесцентного белка, могут помочь в точной идентификации паралогичных генов. Это позволит лучше понять генетическую основу и пути эволюции биолюминесцентной функции копепод.

Нами были выделены и проанализированы геномные и кДНК гены для трех изоформ люциферазы *M. longa* – MLuc2, MLuc7 и MLuc39. Ранее в последовательностях всех исследованных изоформ люциферазы было идентифицировано 2 tandemных неидентичных повтора, формирующих высококонсервативную область молекулы [1]. У гена MLuc2 изоформы обнаружено 4 интрона, 2 из которых находятся в одинаковых местах в середине высококонсервативных повторов что означает, что интрон консервативного повтора уже был в предковой последовательности до образования люциферазного гена путем tandemного повтора. 2 других явно разделяют функциональные части: первый расположен в начале консервативной части, третий почти разделяет повторы. У более короткой изоформы MLuc7 имеется 3 интрона, положение которых совпадает с интронами MLuc2. У большей MLuc39 идентифицировано 5 интронов, положение первого и с третьего по четвертый совпадает с геном MLuc2 изоформы. Эти данные предполагают независимую эволюцию генов изоформ после множественной дупликации гена предковой люциферазы, которая также была образована путем дупликации. Это подтверждает, что исследованные изоформы кодируются паралогичными генами.



Рис. 1. Схема интронов в генах изоформ люциферазы *M. longa*: зеленый – сигнальный пептид, фиолетовый – переменный конец, красный – первый повтор, синий – второй повтор, In – интрон.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю, в.н.с. лаборатории фотобиологии Института биофизики СО РАН, к.б.н. Марковой Светлане Владимировне.

### Литература:

- [1] Markova, S.V., et al., Journal of Biological Chemistry (2004) 279,5: 3212-3217.  
 [2] Markova, S.V., et al., Photochemistry and photobiology (2019) 95, 3: 705-721.

**Анализ жирнокислотного состава керамических сосудов стоянки  
бронзового века Нижнего Приангарья**  
**Округина Анастасия Константиновна**  
**Сибирский федеральный университет**

На сегодняшний день анализ липидного состава в археологии довольно актуален. При помощи естественнонаучных методов стало возможным изучение остаточного липидного следа на керамике и определение палеодиет. Для памятников, на которых слабо выражен остеологический контекст или проблемным вопросом является функционал сосудов, метод газовой хроматографии позволяет идентифицировать остатки отдельных жирных кислот.

Все образцы были взяты из одного керамического сосуда, найденного в полу жилища № 1 поселения Ельчимо-1 в ходе археологических работ 2022 года. Памятник приурочен к поверхности надпойменной террасовидной площадки р. Ангары в Богучанском районе Красноярского края. В образцах состав жирных кислот (табл. 1) включал их диапазон с длиной углеродной цепи от 14 до 20, с преобладанием насыщенных неразветвленных соединений, за исключением одной ненасыщенной кислоты (C18:1).

Таблица 1. Состав жирных кислот, присутствующих в образцах

Жирная кислота	Образец №1, %	Образец №2, %	Образец №2 (поверхностный слой), %	Образец №3, %	Образец №3 (поверхностный слой), %
Миристиновая(C14:0)	8,3	3,1	2,5	1,4	10,5
Пентадекановая(C15:0)	9,9	1	0	0,9	9,5
Пальмитиновая(C16:0)	43,6	32,3	30,3	26,1	39,1
Маргариновая(C17:0)	0	2,7	0	3,7	0
Стеариновая(C18:0)	38,2	48,3	67,2	62,2	40,8
Олеиновая(C18:1)	0	11,1	0	4,9	0
Эйкозановая(C20:0)	0	1,4	0	0,8	0

Результаты анализа указывают на преимущественно животное происхождение липидов из данных образцов, в частности, можно отметить маркер жвачных животных, представленный парой пентадекановой (C15:0) и маргариновой (C17:0) кислотами [1]. Помимо него вероятно присутствие липидов водного происхождения (олеиновая, C18:1) [2], косвенным подтверждением чего является множество находок остатков ихтиофауны на поселениях населения Нижнего Приангарья периода бронзового века [3]. Успешное применение метода газовой хроматографии позволило установить, что сосуд, найденный в полу жилища № 1 поселения Ельчимо-1 использовался человеком для приготовления пищи. Таким образом, нами отработан метод, который будет полезен для определения палеодиеты древнего населения.

Автор выражает благодарность соавторам работы: Рогозину Д.Ю., Мандрыке П.В., Сенотрусовой П.О., Бояндину А.Н., Лисину В.Э.

**Литература:**

- [1] T. Van de Velde et al. Lipids, funerals, gifts and feasts. Organic residue analysis on Merovingian ceramics from the Elversele burial field (Belgium). *Journal of Archaeological Science: Reports*. 2019. Vol. 24. P. 30–38.
- [2] R.P. Evershed et al. Experimental evidence for the processing of marine animal products and other commodities containing polyunsaturated fatty acids in pottery vessels. *Archaeometry*, 2008. Vol. 50 Is. 1, P. 101–113.
- [3] Дударёк С. П., Лохов Д. Н. Погребальные комплексы бронзового века Северного Приангарья. Вопросы хронологии и культурной принадлежности. *Известия Иркутского государственного университета*, 2014. №7. С. 54–80.

**Новые для Енисея виды водных лютиков (*Ranunculus* sect. *Batrachium*, *Ranunculaceae*).**

Минаков Илья Дмитриевич

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Сибирский Федеральный Университет

Информация о видовом составе макрофитов необходима для оценки динамики видового разнообразия, экологического состояния и продукционных характеристик фитоценозов. Объектом нашего исследования стали водные лютики (*Ranunculus*) из секции шелковников (*Batrachium*) – широко распространённая в р. Енисей группа макрофитов, представители которой образуют заросли с большой биомассой или включаются в иные сообщества. Это группа водных растений является таксономически сложной за счёт частой гибридизации и высокой фенотипической изменчивости [1]. При обработке полевых проб, собранных летом-осенью 2022 года, и анализе гербария были отмечены образцы морфологически не похожие на известные для Енисея виды. В частности, обратили на себя внимание следующие ключевые особенности обнаруженных растений: (1) грушевидные нектарники, обволоснённый стебель, длина листа до 2,5 см, гомотиллия; (2) грушевидные нектарники, лысый стебель, длина листа более 2,5 см, гетеротиллия.

Проанализировав морфологию наших образцов и литературные данные, мы пришли к выводу, что неизвестные гомотилльные растения, нектарники которых мы могли наблюдать, принадлежат ранее не упоминаемому для Енисея азиатско-североамериканскому виду *R. subrigidus* W.B. Drew. Многие образцы, в связи с особенностями экологии шелковников, не имели цветков, и мы не могли с уверенностью отнести их к этому виду, поскольку сходными чертами может обладать иной, распространённый в Сибири, и очень полиморфный вид – *R. trichophyllus* Chaix. В тоже время гетеротилльные растения невозможно отнести ни к одному ранее известному виду шелковников. Мы считаем, что речь идёт либо об обнаружении нового вида (возможно гибридного происхождения), либо ранее неизвестного гибрида или уникальной формы известного вида. Имеющиеся у нас данные по морфологии, экологии, фертильности пыльцы и ареалам потенциальных родительских таксонах этих растений допускают справедливость всех вариантов. Поскольку анализ морфологических признаков не позволил однозначно идентифицировать таксоны, был проведён филогенетический анализ водных лютиков по нуклеотидным последовательностям ITS региона, генов *matK* и *rbcL*, межгенных спейсеров *trnL-trnF* и *psbA-trnH* [2]. В результате анализа было подтверждено соответствие всех коротколистных и обволоснённых растений к виду *R. subrigidus*. Растение с гетеротилльными листьями в кладу к *R. subrigidus* не вошло, показав генетические связи с другими видами, в том числе известными для бассейна Енисея. Таким образом, впервые было обнаружено широкое распространение *R. subrigidus*, в р. Енисей, популяции которого встречаются как минимум от Красноярской ГЭС до устья р. Подкаменная Тунгуска. Также зарегистрировано две популяции растений, с ранее не описанными в мировой литературе признаками.

Автор выражает благодарность соавторам работы: Путилину И. Р. и Зотиной Т. А.

Литература:

[1] Wiegand G., Bobrov A.A., Zalewska-Gałosz J. A taxonomic account of *Ranunculus* section *Batrachium* (*Ranunculaceae*) // *Phytotaxa*. 2017. Т. 319, № 1. С. 1–55.

[2] Telford A. et. al. Can genetic bar-coding be used to identify aquatic *Ranunculus* L. subgenus *Batrachium* (DC) A. Gray? A test using some species from the British Isles // *Aquat. Bot. Elsevier B.V.*, 2011. Т. 95, № 1. С. 65–70.

## Сезонная динамика ручейников *Apatania crytophila* в среднем течении реки Енисей

Коновалова Дарья Андреевна

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, СФУ

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Енисей – одна из крупнейших рек мира и самая многоводная река России. Среднее течение Енисея располагается на участке между Красноярской ГЭС и устьем р. Ангары. Личинки *Apatania crytophila* являются одним из основных компонентов питания хариуса [1] и индикатором радиационного загрязнения Енисея [2]. Массовые скопления личинок *A. crytophila* наблюдаются на водном мхе (*Fontinalis antipyretica*), однако сезонная динамика численности, жизненный цикл и другие аспекты их жизнедеятельности в р. Енисей не изучены.

Цель данной работы – изучить сезонную динамику ручейников *A. crytophila* на водном мхе *F. antipyretica*, определить периоды вылетов имаго и скорость роста личинок.

Для анализа использованы пробы сообщества беспозвоночных водного мха, собранные в р. Енисей в 2021-2022 гг. на расстоянии около 20 км ниже плотины Красноярской ГЭС.

Помимо *A. crytophila* в сообществе беспозвоночных водного мха единично встречались ещё 8 видов ручейников [3]. Среди ручейников по биомассе и численности личинки *A. crytophila* доминировали во всех пробах. Минимальная численность и биомасса личинок *A. crytophila* зарегистрирована в июне-июле, максимальная – в сентябре-октябре. Анализ размерных групп домиков личинок показал, что массовый вылет имаго происходит в июне-июле, однако менее масштабные вылеты происходят также в августе-октябре. Скорость роста личинок, оцененная по сдвигу пика самой многочисленной размерной группы, достигала максимума в августе, что соответствует периоду максимальной температуры воды в реке. К ноябрю скорость роста личинок снижалась до нуля.

Полученные результаты позволят оценить вклад личинок ручейников, обитающих на водном мхе, в энергетический баланс и потоки вещества в экосистеме р. Енисей.

### Литература:

- [1] Зуев и др. Питание хариуса *Thymallus sp.* в среднем течении р. Енисей. Журнал Сибирского федерального университета. Биология. Т. 4, № 3, С. 281–292 (2011).
- [2] Zotina, T. A., Trofimova, E. A., Dementyev, D.V. Time-dependent trends of artificial radionuclides in biota of the Yenisei River (Siberia, Russia). J. Environ. Radioactiv. PP. 208–209, 106028 (2019).
- [3] Konovalova, D. A., Kislitsyna, N. I., Zotina, T. A. Assemblages of Trichoptera larvae on water moss in the middle reaches of the Yenisei River (Siberia, Russia). Zootaxa. (2023, in press).

**Исследование характеристик штаммов-продуцентов молочной кислоты при использовании глюкозного сиропа в качестве источника углерода**Ермилецкая Наталья Леонидовна

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Биотехнологическое получение молочной кислоты основано на сбраживании ценных сахаросодержащих субстратов, что значительно отражается на себестоимости конечного продукта. Среди субстратов выделяют чистые углеводы (глюкоза, сахароза, лактоза и др.), а также мелассу и различные гидролизаты, в том числе глюкозный сироп [1, 2]. Данный субстрат, являясь продуктом гидролиза крахмалосодержащего сырья, состоит преимущественно из глюкозы, но значительно дешевле последней. Целью данной работы было сравнение продуктивности ряда штаммов-продуцентов молочной кислоты при периодическом глубинном культивировании с использованием глюкозного сиропа в качестве углеродного субстрата.

В качестве объектов исследования использовали штаммы МКБ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 19-11, *L. acidophilus* 5 Дс, *L. lactis* subsp. *lactis*. В-1662. Культивирование проводили на жидкой среде MRS при температуре 40 °С (для *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *L. acidophilus*) или 32 °С (для *L. lactis* subsp. *lactis*) при перемешивании со скоростью 150 об/мин в ферментере объемом 5 л. Длительность культивирования составила 72 часов. Начальное значение рН в колбах составило 6,2-6,4. Через каждые 4 часа культивирования измеряли рН культуральной среды, содержание биомассы, глюкозы и молочной кислоты.

По результатам периодического глубинного культивирования выбранных трех штаммов-продуцентов молочной кислоты на глюкозном сиропе установлены различия их в потреблении субстрата и продуктивности (Таблица 1).

Таблица 1. Сравнительные показатели роста штаммов-продуцентов молочной кислоты

Наименование показателя	Штаммы-продуценты		
	<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. lactis</i>
Потребление глюкозы, г/л	151,7	189,9	64,7
Концентрация биомассы, г/л	3,62	2,0	0,95
Выход молочной кислоты, г/л	132,0	127,3	51,6
Продуктивность, г/(л×ч)	1,94	1,87	0,76
Степень конверсии, %	87,0	67,0	79,7

Наиболее продуктивным из выбранных оказался штамм *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 19-11 – он позволяет получать до 1,94 г/(л×ч) молочной кислоты с конечным ее выходом 132,0 г/л за 72 часа культивирования. *Lactobacillus acidophilus* 5 Дс и *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* В-1662 продемонстрировали продуктивность 1,87 и 0,76 г/(л×ч), соответственно. Хроматографический анализ показал, что все исследованные штаммы продуцировали смеси L- и D- молочной кислоты с содержанием L-изомера от 49,4 до 73,0 %.

Автор выражает благодарность соавторам работы: Сухановой А. А., Бояндину А. Н., Сырцову С. Н., Серее А. А., Прокопчук Ю. А., Бротт В. В.

## Литература:

- [1] Евелева В. В., Коршунова Н. А., Баракова Н. В., Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке, С. 74-78 (2019).  
 [2] Wang J., Wang Q., Xu Z., Zhang W., Xiang J., Journal of microbiology and biotechnology, Т. 25, № 1, С. 26-32 (2015).

## Длинноцепочечные алкеноны в верхних слоях донных отложений озер Северо-Минусинской котловины (Южная Сибирь): значение для палеоклиматических реконструкций

Бульхин Александр Олегович

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

До сих пор закономерности климатических колебаний в высокоширотных регионах Азии, например, в Сибири, изучены недостаточно [1]. Хронология изменений солёности, реконструированная по отложениям озер Минусинской котловины, является важным источником данных о региональных изменениях влажности климата прошлого. Одним из наиболее перспективных термо- и солечувствительных биомаркеров палеоклимата являются длинноцепочечные алкеноны (ДЦА) [2-3]. Таким образом, целью работы стал анализ зависимостей в распределении ДЦА и таксономического состава их продуцентов от солёности, а также оценка потенциала региональных палеореконовструкций по ДЦА. В ходе полевых исследований в летние месяцы с 2019 по 2021 гг. были отобраны образцы верхних слоев донных отложений (1 см) из центральной части 22 озер, расположенных в Северо-Минусинской котловине. В лаборатории пробы анализировались методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). Отбор проб воды и полевые измерения проводились вблизи точек забора кернов.

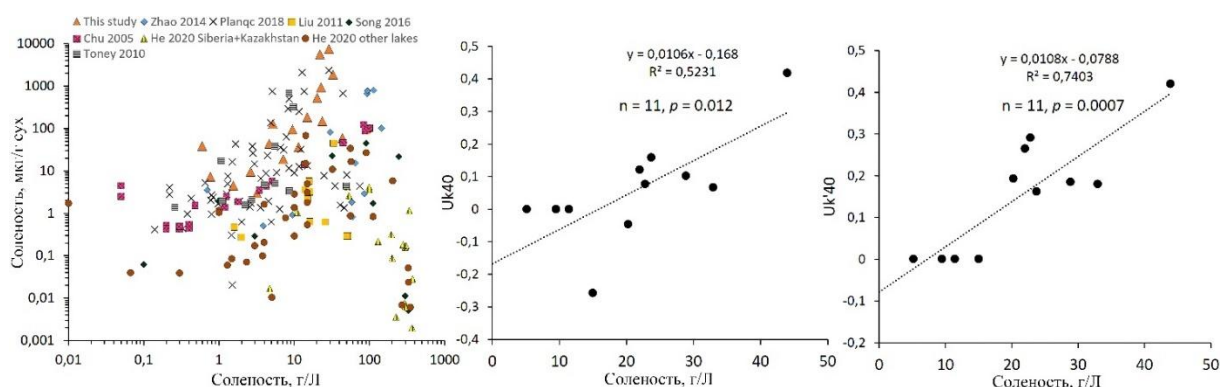


Рис. 2. Общее содержание алкенонов в поверхностных отложениях и индексы  $U_{40}^K$ ,  $U_{40}^{K'}$  в зависимости от солёности в озерах и средних широт

Было установлено, что общие концентрации ДЦА резко возрастают при солёности около  $20 \text{ г Л}^{-1}$  и их пики в кернах отложений могут указывать на увеличение солёности (Рис. 1). Дополнительно, индексы ненасыщенности  $U_{40}^K$  и  $U_{40}^{K'}$  (Рис. 1) положительно коррелируют с солёностью, таким образом, показывают потенциал в качестве косвенного показателя солёности для реконструкции регионального климата.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 22-17-00185. Автор выражает благодарность соавторам работы: Зыкову В. В., Марченко Д. Н., Кабилову М. Р., Батуриной О. А., Бояндину А. Н., Анищенко О. В., Рогозину Д. Ю.

### Литература:

- [1] Rudaya, N., Krivonogov, S., Słowinski, M., Cao, X., Zhilich, S., Quaternary Science Reviews, V.249, PP. 106616 (2020).
- [2] Longo, W.M., Theroux, S., Giblin, A.E., Zheng, Y., Dillon, J.T., Huang, Y., Geochimica et Cosmochimica, V.180, PP. 177-196 (2016).
- [3] Bulkhin, A. O., Zykov, V. V., Marchenko, D. N., Kabilov, M. R., Baturina, O. A., Boyandin, A. N., Anishchenko, O. V., Rogozin, D. Y., Organic Geochemistry, V.176, PP. 104541 (2023).



## **Сравнение структурных переходов карбоксиангидразы Б под действием разных дестабилизирующих факторов методом время-разрешенной флуоресценции**

Карузина Наталья Евгеньевна

*Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, СФУ*

Собственная флуоресценция белка – параметр, чувствительный к нарушению его структуры. Поскольку значения времени жизни обусловлены только структурой и окружением флуорофора, а не его концентрацией, ранее было предложено на примере карбоксиангидразы Б использовать компоненты времени жизни флуоресценции белков для описания их структурных переходов в ходе разворачивания/сворачивания [1]. В данной работе исследовали структурные переходы карбоксиангидразы Б при вариации pH раствора методом время-разрешенной флуоресцентной спектроскопии, а затем проводили сравнительный анализ с параметрами, полученными при денатурации мочевиной.

Для исследования использовали лиофилизированный препарат карбоксиангидразы Б быка (BCA II), полученный в группе спектроскопии белка Института белка РАН (г. Пущино). Объектом исследования являлись дикий тип BCA II и его мутантные формы L78A, L139A, I208A, M239A.

Оптические характеристики: спектр поглощения (спектрофотометр Cary 5000, Agilent Technologies), флуоресценция при стационарном и импульсном возбуждении с длиной волны 296 нм (спектрофлуориметр Fluorolog-3, Horiba, JobinYvon) были измерены после инкубирования образцов в течение >20 часов при комнатной температуре в цитратно-фосфатном буфере при pH 2-8. Времена жизни флуоресценции вычисляли с помощью методов деконволюции [2] и глобального анализа [3] по спадам флуоресценции, измеренным в диапазоне 305 – 417 нм. Спектры флуоресценции были откорректированы с учетом эффекта внутреннего фильтра и фона растворителя.

Получено, что триптофановая флуоресценция белков характеризуется двумя основными временами жизни:  $\tau_1 = 1-2$  нс и  $\tau_2 = 4,8-5,8$  нс. Наложение рассчитанных значений времени жизни флуоресценции на параметрические графики  $\tau_1(\tau_2)$ , полученные при равновесной денатурации BCA II в мочеvine, показало, что в области нативного состояния белков (pH 6,5-8) время-разрешенные характеристики совпадают. Для корректной интерпретации и сравнения характеристик белков было проведено измерение зависимости времени жизни свободного триптофана от pH среды. Получено, что при увеличении pH от 2 до 6,5 флуоресценция триптофана характеризуется двумя компонентами с увеличивающимися значениями:  $\tau_1$  – с 1,01 до 1,38 нс и  $\tau_2$  – с 1,98 до 3,10 нс.

Таким образом, было показано, что для корректного сравнения путей разворачивания белка под действием различных факторов требуется учитывать изменение характеристик репортерных групп белка (триптофановых остатков) под действием этих факторов.

### Литература:

- [1] Nemtseva E.V., Gerasimova M.A., Melnik T.N., Melnik B.S. Experimental approach to study the effect of mutations on the protein folding pathway // PLoS ONE, 2019, vol. 14, № 1, p. e0210361.
- [2] Ameloot M., Hendrickx H. Extension of the performance of Laplace deconvolution in the analysis of fluorescence decay curves // Biophys. J., 1983, № 44 (1), pp. 27-34.
- [3] Knutson J.R., Beechem J.M., Brand L. Simultaneous analysis of multiple fluorescence decay curves: A global approach // Chem. Phys. Lett., 1983, № 102 (6), pp. 501-507.



## **Биологическая активность наночастиц оксида железа $Fe_3O_4$ .**

### **Биолюминесцентный мониторинг.**

Кичеева Арина Геннадьевна

*Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН*

Наночастицы оксида железа широко используются для различных биомедицинских применений, включая магнитно-резонансную томографию, целенаправленную доставку лекарств, разделение и мечение клеток и магнитоопосредованную гипертермию [1]. Также наночастицы оксида железа могут быть применимы в индуцирование ферроптоза, одного из типов программируемой окислительной некротической гибели клетки, характерной особенностью которого является железо-зависимое перекисное окисление липидов, которое связано с выработкой активных форм кислорода (АФК). Ферроптоз известен для раковых клеток и играет важную роль в возможном лечении опухолей [2].

Многие наночастицы оксида железа характеризуются помимо магнитных свойств, также биосовместимостью, химической и коллоидной стабильностью, и возможностью функционализации поверхности, помимо этого, они являются биологически активными веществами. Эти свойства делают наночастицы оксида железа перспективными для применения их в биомедицине, но также могут создавать возможные риски для окружающей среды и живых организмов. [3]

В качестве тестовой системы для определения биологической активности и мониторинга токсичности применялись биотесты с использованием биолюминесцентных бактерий. Биолюминесцентные биотесты характеризуются простотой применения, высокой скоростью тестирования, которая позволяет одновременно анализировать большое число проб-образцов в сопоставимых условиях.

В нашем исследовании оценивается роль АФК в биоэффектах трех типов наночастиц: немодифицированные ( $Fe_3O_4$ ), модифицированные гуминовыми кислотами ( $Fe_3O_4$ -НА) и модифицированные 3-аминопропилтриэтоксисиланом ( $Fe_3O_4$ -APTES) наночастицы оксида железа. Для мониторинга токсичности и анти-(про-)оксидантной активности наночастиц оксида железа применяли бактериальные биолюминесцентные биотесты. Содержание АФК определяли с помощью хемилюминесцентного люминольного метода, оценивали корреляции с коэффициентами токсичности/анти-(про-)оксидантной активности. Токсическое действие модифицированных наночастиц оксида железа было обнаружено при высоких концентрациях ( $>10^{-2}$  г/л); оно было связано с накоплением АФК в бактериальных суспензиях. Все три типа наночастиц стимулировали продукцию АФК бактериями в широком диапазоне концентраций ( $10^{-15}$ –1 г/л). В условиях модельного окислительного стресса и высоких концентрациях наночастиц оксида железа ( $>10^{-4}$  г/л) бактериальный биотест выявил прооксидантную активность всех трех типов наночастиц при соответствующем снижении содержания АФК. Результаты объясняются с точки зрения связи токсических и прооксидантных эффектов с генерацией АФК бактериями [4].

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 22-73-10222. Автор выражает благодарность соавторам работы: Сушко Е. С., Кудряшевой Н. С.

#### Литература:

- [1] Mai T., Hilt J. Z. Colloids and Surfaces A 576, PP. 9-14 (2019).
- [2] Dixon S.J., et al. Cell, Vol. 149, PP. 1060–1072 (2012).
- [3] Arias L.S., et al. Antibiotics (Basel), Vol. 9, PP. 46 (2018).
- [4] Kicheeva A.G., et al. Int. J. Mol. Sci., Vol. 24, PP. 1133 (2023).

## **Некоторые свойства стимулятора биоломинесценции базидиомицета *Neonothopanus nambi***

Посохина Екатерина Дмитриевна

*Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН*

Для выделения экстраклеточных оксидаз из мицелия светящегося высшего гриба *Neonothopanus nambi* предложен оригинальный способ его обработки  $\beta$ -глюкозидазой [1]. В экспериментах с полученными таким образом экстрактами был обнаружен интересный феномен. Добавки аликвот экстракта к светящемуся мицелию значительно увеличивали уровень его эмиссии, при этом сами экстракты не обладали регистрируемым свечением. Была высказана гипотеза о наличии в экстрактах стимулятора свечения гриба *N. nambi*.

Цель настоящей работы состояла в изучении некоторых свойств обнаруженного стимулятора биоломинесценции базидиомицета *Neonothopanus nambi*.

В исследованиях использована культура базидиального гриба *N. nambi* IBSO 2391 из Коллекции микроорганизмов (CCIBSO 836) ИБФ ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск). Шарообразные пеллеты мицелия получали при культивировании гриба в погруженных условиях [2]. Выращенные пеллеты: промывали деионизированной (ДИ) водой (Milli-Q system, Millipore, США), помещали в свежий объем ДИ, содержащей  $\beta$ -глюкозидазу (Serva, Германия), и инкубировали в течение 24 часов при 25°C. Жидкую часть (водный экстракт) отделяли фильтрацией биомассы через бумажный фильтр. Высоко- и низкомолекулярные компоненты экстракта разделяли фильтрацией через мембрану 10 кДа (EMD Millipore Amicon, Darmstadt, Германия). Для полного отделения низкомолекулярных соединений при фильтрации в экстракте трижды заменяли ДИ воду, каждый раз собирая подмембранные фильтраты. Фильтраты объединяли и концентрировали на роторном испарителе Rotavapor R-215 (Buchi, Швейцария). Фракционирование низкомолекулярных компонентов и оценку молекулярной массы стимулятора проводили хроматографией концентрата на колонке с Bio-Gel P2 (Bio-Rad, США), в качестве маркеров использовали НАД, АТФ и АДФ (Serva, Германия). Для спектральных исследований использовали спектрофотометр UV-1800 (Shimadzu, Япония) и спектрофлуориметр Varian Cary Eclipse (Agilent Technologies, США). Эффект стимуляции свечения гриба *N. nambi* оценивали в экспериментах *in vivo* на пеллетах мицелия (см. выше) и *in vitro* с использованием люминесцентной системы, выделенной из гриба *N. nambi* [3]. Интенсивность и динамику световых сигналов регистрировали на люминометре Glomax® 20/20 (Promega, США). Для термообработки образцов, содержащих стимулятор свечения, использовали термостат TB-85 Thermo Batch (Shimadzu, Япония).

В исследованиях установлено: компонент, стимулирующий *in vivo* свечение гриба *N. nambi*, является низкомолекулярным, термостабильным соединением (имеет величину кажущейся молекулярной массы 0.46 кДа, сохраняет эффект после обработки при 100°C в течение 5 минут); спектр поглощения водного образца стимулятора содержит два основных пика при 205 и 260 нм и плечо в диапазоне 350-370 нм; стимулятор свечения обладает синей флуоресценцией с максимумом эмиссии 440-445 нм после возбуждения при 350-370 нм; стимулятор не является субстратом люминесцентной системы гриба *N. nambi*.

Автор выражает благодарность соавторам работы Н.О. Ронжину, О.А. Могильной и В.С. Бондарю.

### Литература:

- [1] Mogilnaya O.A., et al., Asian J. Mycol., V.3, PP.408-418 (2020).
- [2] Mogilnaya O.A., et al., Curr. Res. Environ. Appl. Mycol., V.8, PP.75-85 (2018).
- [3] Bondar V.S., et al., Dokl. Biochem. Biophys., V.455, PP.56-58 (2014).

**Диеты, которые не позволяют бентоядным лососевым рыбам *Thymallus baicalensis* реализовать свой потенциал по накоплению большого содержания омега-3 ПНЖК в мышечной ткани**

Машонская Юлия Олеговна

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, СФУ  
Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

В Сибири, в больших реках, таких как Енисей, и многих мелких затененных лесом реках и ручьях многочисленным видом является байкальский хариус *Thymallus baicalensis* (Dybowski, 1874), относящийся к лососеобразным рыбам [3-5]. Лососеобразные – ценные промысловые рыбы с высоким содержанием физиологически важных омега-3 длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот (ДЦ-ПНЖК), а именно эйкозапентаеновой (ЭПК; 20:5n-3) и докозагексаеновой (ДГК; 22:6n-3) [1-2]. Содержание ЭПК и ДГК в рыбах зависит от большого числа факторов, ключевыми из которых являются спектр питания и таксономическая принадлежность.

Нами был изучен состав и содержание жирных кислот байкальского хариуса, обитающего в шести реках, различающихся по кормовой базе рыб. В четырех затененных реках (Тамасул, Крутая Кача, Гладкая Кача и Базаиха) большую долю рациона рыб составляли наземные беспозвоночные, не содержащие ЭПК и ДГК. В незатененной реке (Мана) рацион хариуса был основан на водных насекомых, богатых ЭПК, но бедных ДГК. В большой незатененной реке (Енисей) основу рациона рыб составляли ракообразные (гаммариды), богатые ЭПК и ДГК, чья пищевая цепь базировалась преимущественно на диатомовых водорослях. Разные спектры питания оказывали сильное влияние на содержание ЭПК и ДГК в мышечной и жировой тканях рыб, и минимальное влияние на содержание этих ПНЖК в головном мозге. Пищевая ценность рыб в отношении омега-3 ДЦ-ПНЖК из затененных рек и Маны была в два раза ниже, чем пищевая ценность рыб из Енисея.

Автор выражает благодарность соавторам работы: д.б.н. Махутовой О. Н., к.б.н. Зуеву И. В., Андрущенко П. Ю., Султонову Ш. А.

Литература:

- [1] Gladyshev M. I., Makhrov A. A., Sushchik N. N., Makhutova O. N., Rudchenko A. E., Balashov D. A., Vinogradov E. V., Artamonova V. S., *Aquaculture*, 556, 738265 (2022).
- [2] Gladyshev M. I., Sushchik N. N., Tolomeev A. P., Dgebuadze Y. Y., *Rev. Fish Biol. Fish*, 28, PP. 277–299 (2018).
- [3] Weiss S. J., Gonçalves D. V., Secci-Petretto G., Englmaier G. K., Gomes-Dos-Santos A., Denys G. P. J.; Persat H., Antonov A., Hahn C., Taylor E. B., Froufe, E., *Org. Divers. Evol*, V. 21, PP. 25–42 (2020).
- [4] Zuev I. V., Andrushchenko P. Yu., Zotina T. A., *Environ. Biol. Fish*. 104, PP 1293–1302 (2021).
- [5] Андрианова А. А., Дербинева Е. В., Гадинов А. Н., Кривоуцкий А. Н., Мельников И. И., *Биология*, Т 45, С 142-163 (2019).

**Радиопротекторные свойства гуминовых веществ и фуллеренола C<sub>60,70</sub>**

*Колесник Ольга Владиславовна*

*Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН*

Низкоинтенсивные радиоактивные загрязнения являются современной актуальной проблемой. Низкоинтенсивное излучение характеризуется концентрацией радионуклидов альфа- и бета-типа или/и мощностью дозы гамма-лучей, оказывающих «низкодозовое» воздействие на организмы. Чувствительность организмов к низкодозовому радиационному воздействию пока недостаточно изучена и представляет особый интерес.

Изучение влияния детоксицирующих веществ на низкодозовые ионизирующие воздействия актуально с точки зрения сохранения безопасности окружающей среды. В качестве примеров детоксицирующих соединений можно рассматривать гуминовые вещества (ГВ) и фуллеренолы. Детоксицирующая активность гуминовых веществ и фуллеренолов активно изучается [1,2].

Образцы бактериальной суспензии готовили из лиофилизированных препаратов бактерий по стандартной методике: для имитации морской среды для бактериальных клеток и балансировки осмотических процессов использовали 3% раствор NaCl. В качестве источника трития использовали тритиевую воду (НТО). НТО добавляли к растворам 3% NaCl и смешивали с бактериальными суспензиями до конечных удельных радиоактивностей: 0,3; 2; 50 и 500 МБк/л. В качестве источника гуминовых веществ использовали препарат Гумат-80, («Гумат», Иркутск, Россия), полученный методом безэкстракционной обработки угля. Выбранная концентрация ГВ составляла 10<sup>-3</sup> г/л. Фуллеренол C<sub>60,70</sub>O<sub>y</sub>(OH)<sub>x</sub> (x=22-24, y=2-4) был получен в Институте Физики им. Л.В. Киренского СО РАН (Красноярск, Россия). Растворы фуллеренола готовили в дистиллированной воде. Измерения интенсивности биолюминесценции и хемилуминесценции проводили с помощью планшетного люминометра Luminoskan Ascent (Thermal Fisher Corp.).

Гуминовые вещества и фуллеренолы уменьшают как ингибирующее, так и активирующее действие трития на светящиеся бактерии. Этот результат свидетельствует о важной роли детоксикантов в природных процессах в регионах с радиоактивным загрязнением. Данные вещества могут быть использованы в качестве детоксицирующих агентов (радиопротекторов) при очистке производственных стоков.

Результаты могут способствовать пониманию перспектив биолюминесцентных биотестов для мониторинга низкоинтенсивного радиоактивного облучения. Морские бактерии можно рассматривать как упрощенную модель высших организмов.

Автор выражает благодарность соавторам работы: Рожко Т. В., Кудряшевой Н. С.

Литература:

- [1] Rozhko T. V., Kolesnik O. V., Badun D. A. et al., International Journal of Molecular Sciences, V. 21, PP. 6783 (2020).
- [2] Kovel E. S., Sachkova A. S. Vnukova, N. G. et al., International Journal of Molecular Sciences, V. 20, PP 2324 (2019).

## Биосинтез и свойства трехкомпонентных полигидроксиалканоатов, полученных в культуре бактерий *Cupriavidus necator* B-10646

Сапожникова Кристина Юрьевна

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

К необычным и малоисследованным типам ПГА относятся сополимеры, содержащие в качестве мономеров, помимо 3-гидроксибутирата (ЗГБ) и 3-гидроксиивалерата (ЗГВ), также мономеры 4-гидроксиивалерата (4ГВ) [1-2]. Такие сополимеры демонстрируют более низкие показатели температуры плавления и степени кристалличности, поэтому повышение содержания мономеров ЗГБ и 4ГВ в их составе является важной задачей, решение которой расширит область применения ПГА [2-3].

Разработаны и реализованы режимы культивирования бактерий *C. necator* B-10646 на фруктозе и масляной кислоте с дробной подачей  $\gamma$ -валеролактона в качестве прекурсорного соединения для синтеза мономеров ЗГВ и 4ГВ. Варьируя концентрацию и количество доз предшественника, а также основного углеродного субстрата, удалось найти условия, обеспечивающие образование мономеров 3- и 4-гидроксиивалерата и их включение в С-цепь поли(3-гидроксибутирата) при одновременном сохранении высоких выходов бактериальной биомассы (свыше 7.0 г/л) и содержания полимера в клетках (свыше 80 %) (рис. 1).

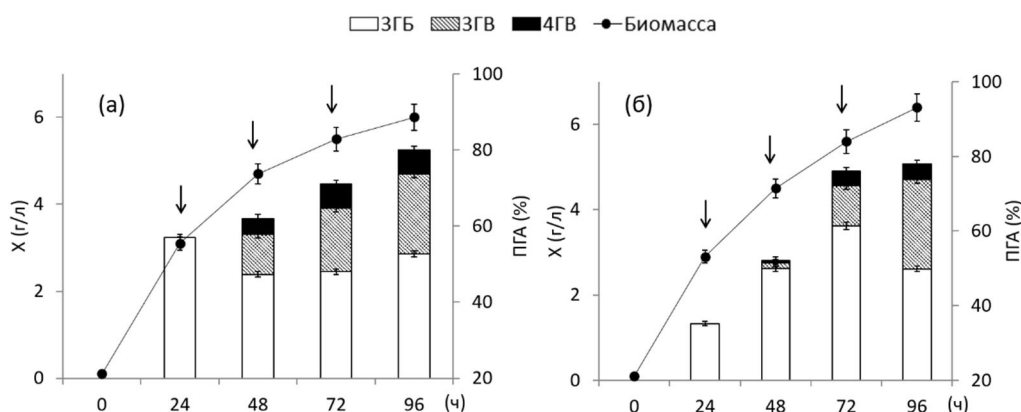


Рис. 1 – Концентрация биомассы бактерий *C. necator* B-10646, содержание и состав ПГА при использовании фруктозы (а) и масляной кислоты (б) в качестве основного С-субстрата с дробным внесением в культуру трех добавок  $\gamma$ -валеролактона в концентрации 1.5+1.5+2.0 г/л (стрелками указано время подачи  $\gamma$ -валеролактона в культуру бактерий).

Синтезировано семейство сополимеров П(ЗГБ-со-ЗГВ-со-4ГВ) с различным содержанием мономеров ЗГВ (до 30.7 мол.%) и 4ГВ (до 5.4 мол.%) и изучены их свойства. Отмечено значительное снижение степени кристалличности синтезированных сополимеров (до 38-49 %), что оказывает положительное влияние на их свойства и кинетику кристаллизации, и облегчает переработку в специализированные продукты, улучшая технологические свойства.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках проекта № 0287-2021-0025. Автор выражает благодарность научному руководителю Жила Н.О. и коллективу Лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза ИБФ СО РАН.

### Литература:

- [1] Obruca S. [et al.], *Biotechnology Letters*, V.32, PP. 1925-1932 (2010).
- [2] Koller M. [et al.], *Biocatalysis and Biotransformation*, V.32, PP. 161-167 (2014).
- [3] Lee W.H. [et al.], *Bioresource Technology*, V. 99, PP. 6844-6851 (2008).

## **Влияние фуллеренолов на бактериальную биолюминесценцию**

Сушко Екатерина Сергеевна

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Фуллеренолы – наноразмерные водорастворимые полигидроксилированные производные фуллеренов (аллотропная форма углерода, сферически-замкнутые молекулы). Эти соединения перспективны в медицине, фармакологии и биотехнологии, поскольку обладают высокой биосовместимостью и широким спектром биологической активности (проявляют антиоксидантные, радиозащитные, антибактериальные, противовирусные, противогрибковые, противораковые свойства). Следует отметить, что биологическая активность фуллеренолов изучается в несопоставимых условиях, на разных объектах и остается малоизученной.

В работе анализировалось влияние фуллеренолов различной структуры ( $C_{60,70}O_y(OH)_x$ , где  $x + y = 10-12$ ;  $Gd@C_{82}O_y(OH)_x$ , где  $x + y = 20-24$ ;  $C_{60}O_y(OH)_x$ ,  $C_{60,70}O_y(OH)_x$ , где  $x + y = 24-28$ ;  $C_{60,70}O_y(OH)_x$ ,  $Fe_{0,5}C_{60}O_y(OH)_x$ ,  $Gd@C_{82}O_y(OH)_x$ , где  $x + y = 40-42$ ) на бактериальную биолюминесценцию в сопоставимых условиях. Для мониторинга воздействия фуллеренолов использовали люминесцентные клеточные и ферментативные биотесты (соответственно морские светящиеся бактерии *Photobacterium phosphoreum* и их ферментативные реакции), где главный тестируемый параметр – интенсивность биолюминесценции. Для характеристики ингибирующей способности фуллеренолов определяли их концентрации, подавляющие биолюминесценцию тестовых систем на 50%. Содержание активных форм кислорода (АФК) в экспериментальных растворах оценивали хемилюминесцентным люминольным методом, определяли корреляции с интенсивностью биолюминесценции.

Все исследуемые фуллеренолы продемонстрировали ингибирующую способность при высоких концентрациях ( $>10^{-3}$  г/л) [1]. Методом корреляционного анализа показано, что ингибирующая способность фуллеренолов связана с уменьшением содержания АФК в исследуемых растворах. Меньшей ингибирующей способностью обладают фуллеренолы в структуре которых количество кислородосодержащих групп равно  $\frac{1}{2}$  количества атомов углерода в каркасе, что связано с соотношением размера фрагментов гидрофобной  $\pi$ -системы и количеством полярных (гидрофильных) кислородосодержащих групп. Фуллеренолы интенсивнее ингибируют биолюминесценцию бактериального биотеста, чем ферментативного, что вероятно определяется наличием дополнительных путей воздействия – на гидрофобные фрагменты бактериальной клеточной мембраны. При этом, для бактериальной тестовой системы наименьшей ингибирующей токсичностью обладают Gd-содержащие фуллеренолы  $Gd@C_{82}O_y(OH)_x$  ( $x+y=20-24$ ;  $x+y=40-42$ ), что вероятно связано с большим размером их углеродного каркаса и склонностью к агрегации. Фуллеренолы ускоряют автоокисление НАДН – эндогенного восстановителя (в ферментативном и неферментативном процессах), а также окисление НАДН эндогенным окислителем – ФМН (в ферментативном процессе), что вносит вклад соответственно в уменьшение и увеличение скорости биолюминесцентной реакции [2].

Автор выражает благодарность соавторам работы: Степину Е. А., Кичеевой А. Г., Сачковой А.С., Внуковой Н. Г., Чурилову Г. Н., Кудряшевой Н. С.

### Литература:

- [1] Kovel E.S., Sachkova A.S., Vnukova N.G., Churilov G.N., Knyazeva E.M., Kudryasheva N.S., International Journal of Molecular Sciences, V.20, PP. 2324 (2019).
- [2] Sachkova A.S., Kovel E.S., Churilov G.N., Guseynov O.A., Bondar A.A., Dubinina I.A., Kudryasheva N.S., Biochemistry and Biophysics Reports, V.9, PP. 1-8 (2016).

## Динамические аттракторы нейронной активности у простых нейронных сетей

Маркова Галия Муратовна

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Рефлексия в широком смысле – внутреннее отображение (представление) внешнего мира [1]. Для ряда задач, например, рефлексивных игр, наличие у игрока рефлексии является условием эффективного решения задачи.

В ходе рефлексивной игры, с точки зрения игрока партнер проявляет себя как последовательность символов, организованная определенным образом и потенциально неограниченная ( $\omega$ -язык). Формой внутреннего представления партнера, обеспечивающей адекватную реакцию, является динамический аттрактор в фазовом пространстве нейронной активности [2]. В работе проверена способность искусственных нейронных сетей (ИНС) формировать динамические аттракторы на примере рефлексивных игр «чет-нечет», «камень-ножницы-бумага».

Использовались 15-нейронные рекуррентные ИНС, обученные игре в партиях с другими сетями в течение 1000 ходов, по алгоритму обратного распространения ошибки (глубина 5 ходов). Далее весовые коэффициенты ИНС фиксировались, записывалась динамика нейронной активности в режиме: 1) инициация (200 ходов игры против другой обученной сети/фиксированной временной последовательности ходов или одиночный входной стимул), 2) свободное поведение (1000 ходов при отсутствии входных стимулов). Для обеих игр выявлено наличие странных динамических аттракторов при свободном поведении ИНС (см. Рис.1), что свидетельствует о рефлексивном потенциале даже таких простых систем.

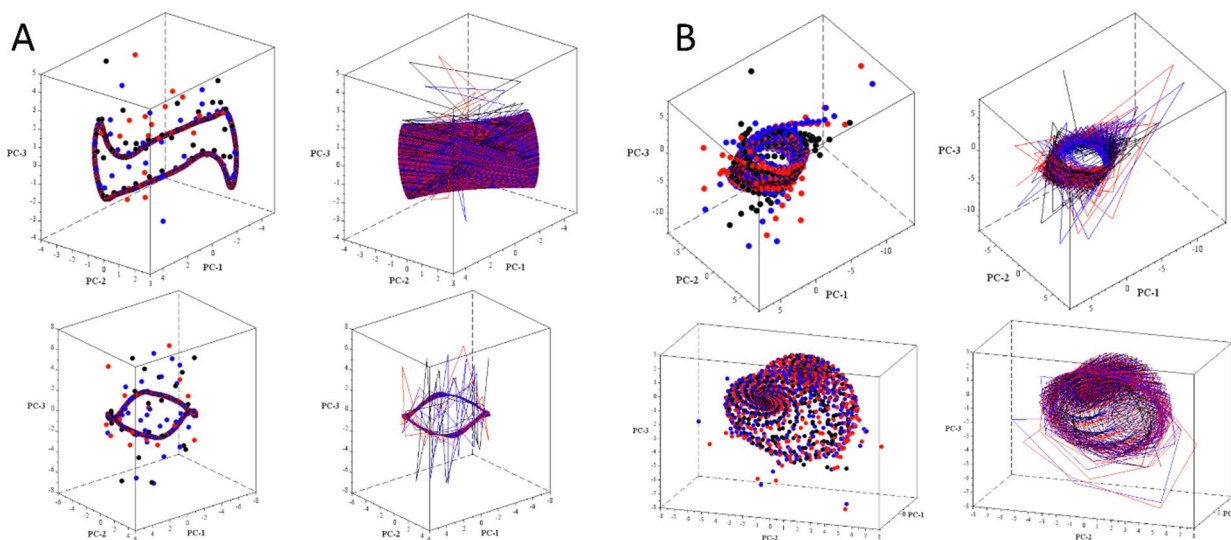


Рис. 3. Примеры динамических аттракторов нейронной активности в пространстве главных компонент, при отсутствии внешнего воздействия на ИНС: (А) в игре «чет-нечет», (В) в игре «камень-ножницы-бумага». Синий цвет – инициация с помощью другой ИНС, красный – с помощью фиксированной последовательности ходов, черный – с помощью одиночного стимула.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 23-21-10041, Красноярского краевого фонда науки. Благодарности: соавтору и научному руководителю д.ф.-м.н. Барцеву С.И., разработчику программы для визуализации нейронной активности Батуриной П.М.

### Литература:

- [1] Лефевр В.А. Рефлексия. М.: Когито-центр, 2003.  
 [2] Cabessa J., Villa A.E.P., PLoS ONE, V.9(4), PP. e94204 (2014).

## **Нетканые наноматрицы из резорбируемых «зеленых» пластиков полигидроксиалканоатов (ПГА) для клеточных технологий**

Дудаев Алексей Евгеньевич

Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН

Электростатическое формование (электроспиннинг) является перспективным методом, который может быть использован для изготовления нано- и микроволокнистых матов и мембран. Изделия электропрядения используются в различных областях, таких как фильтрация, тканевые каркасы и доставка лекарств, нанокompозиты и датчики. Было обнаружено, что процесс электроформования имеет большой потенциал в клеточной и тканевой инженерии [1]. Целью настоящей работы было получение электропряденных ультратонких волокон, различающихся по своим физико-химическим свойствам, с использованием резорбируемых «зеленых» пластиков полигидроксиалканоатов (ПГА) с разным химическим строением, а также исследование влияния параметров электропрядения и химического состава ПГА на морфологию ультратонких волокон и физико-механические и биологические свойства волокнистых матриц.

Образцы полигидроксиалканоатов (ПГА) различного химического состава синтезированы в культуре штамма *Cupriavidus necator* B10646 в Лаборатории биотехнологии новых биоматериалов СФУ [2]. Ультратонкие волокна получали методом электроформования 4% растворов из высокочистых образцов ПГА различного химического строения, содержащих разные фракции мономеров. на автоматической установке *Nanon 01A*. Скорость подачи раствора варьировали от 6 мл/ч, приложенное напряжение от 25 кВ, рабочее расстояние 15 см. Беспорядочно ориентированные или выровненные сверхтонкие волокна собирали на плоской стальной пластине или вращающемся барабане (при 1000 об/мин) соответственно.

Результаты сравнения физико-механических характеристик образцов из ПГА различного химического состава показали существенное различие в степени кристалличности ( $S_x$ ), при этом независимо от химического состава все сополимерные наномембраны имели более высокое удлинение при разрыве, что свидетельствует об их повышенной эластичности, при этом они характеризовались резким снижением прочности по двум показателям (модуль Юнга и разрывная нагрузка). Наиболее высокие значения этих показателей характерны для неориентированных мембран из П(ЗГБ)  $356,23 \pm 40,62$  и  $9,32 \pm 2,54$  МПа соответственно. Ориентированные волокна, полученные из П(ЗГБ), имели средний диаметр 2,1 мкм; диаметр ориентированных волокон сополимеров, в отличие от неориентированных, имел близкие значения. В отличие от результатов значительного изменения физико-механических характеристик наномембран из различных типов ПГА, существенного влияния состава и ориентации ПГА на гидрофильность и поверхностные свойства исследованных полимерных продуктов не обнаружено.

Биологический потенциал наномембран ПГА как клеточных матриц оценивали на примере сополимера П(ЗГБ-со-4ГБ), обладающего наиболее высокими показателями эластичности. При непосредственном контакте с клетками не было выявлено признаков цитотоксичности в культурах фибробластов человека *M22* и фибробластов мыши *NIH 3T3*. Пролиферативная активность клеток не претерпевала видимых изменений в течение всего периода культивирования.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 0287-2021-0025).

### Литература:

[1] Still TJ, von Recum HA. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. 2008; 29: 1989-2006.

[2] Волова Т.Г., Шишацкая Е.И. Штамм бактерий *Cupriavidus eutrophus* ВКМП-10646 - Продукент полигидроксиалканоатов и способ их получения, Патент РФ № 2439143 (2012).



## ***Исследование люциферазы *Metridia* как комплементационного репортера для мониторинга белок-белковых взаимодействий в клетках***

*Селиверстова Анастасия Геннадьевна*

*Институт биофизики, ФИЦ КНЦ СО РАН*

Исследование белок-белковых взаимодействий в живой клетке является одним из основных направлений современной протеомики. Понять, как осуществляется поддержание жизни клетки, невозможно без идентификации всех взаимодействующих друг с другом белков, кодируемых геномом.

Одним из способов исследования белок-белковых взаимодействий является метод комплементации белковых фрагментов. Принцип метода основан на свойстве белка-репортера восстанавливать свою активность при сборке из двух независимых фрагментов во время стерического сближения. По активности репортера можно судить о взаимодействии двух целевых белков, каждый из которых слит с отдельным таким фрагментом.

В качестве таких репортеров представляется перспективным использование биolumинесцентных белков. Целентеразин-зависимая секретируемая люцифераза из копепод *Metridia longa*, является одним из перспективнейших биolumинесцентных репортеров.

Цель данной работы: в рамках исследования возможностей создания комплементационного анализа белок-белковые взаимодействия на основе люциферазы *Metridia* оценить функциональную активность отдельных фрагментов молекулы, потенциально способных к комплементации и проверить уровень восстановления активности при их реассоциации.

Для использования MLuc люциферазы как репортера белок-белковых взаимодействий методом комплементации белковых фрагментов необходимо определить возможные комплементирующие фрагменты люциферазы и их репортерный потенциал. Для работы выбрана высокоактивная изоформа MLuc7 люциферазы *M. longa*, успешно используемая как репортер в эукариотических клетках [1]. Комплементирующие фрагменты энзимов определяют эмпирически – экспериментальным путем проверяя различные фрагменты потенциального репортера на восстановление исходной активности при стерическом сближении.

В данной работе проверяли на комплементацию фрагменты, полученные разделением молекулы люциферазы MLuc приблизительно пополам в районе стыковки тандемных неидентичных повторов, идентифицируемых в последовательности.

В качестве модельного объекта белок-белкового взаимодействия для обеспечения стерического сближения фрагментов люциферазы ML1 и ML2 выбрана последовательность дрожжевого лейцинового зиппера. Последовательности Zip-фрагментов были слиты в единой рамке считывания с последовательность люциферазных фрагментов в той же самой конструкции через гибкий мостик.

Смешивание и совместная инкубация двух фрагментов люциферазы, содержащих димеризующие Zip-фрагменты, привели к восстановлению активности люциферазы, но функциональное восстановление не превышало приблизительно 5% в финальной точке. В развитие работы готовятся другие варианты разделения молекулы люциферазы на потенциально комплементирующие фрагменты на основе предсказанной пространственной структуры MLuc7.

Литература:

[1] Cloning and expression of cDNA for a luciferase from the marine copepod *Metridia longa*. A novel secreted bioluminescent reporter enzyme / S.V. Markova, S. Golz, L.A. Frank, B. Kalthof, E.S. Vysotski // J Biol Chem. 2004 Jan 30;279(5):3212-7.