## РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

**СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ**

### ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ

|  |  |
| --- | --- |
|  | **Утверждаю** Директор ИБФ СО РАН **член-корр. РАН \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**  **А.Г. Дегерменджи**  **«\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2009 г.** |

**ОТЧЕТ**

**О НАУЧНОЙ И НАУЧНО-ОРГАНИЗАЦИОННОЙ**

**ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ИНСТИТУТА БИОФИЗИКИ СО РАН ЗА 2008 ГОД**

## Красноярск, 2009

#### ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |  |
| --- | --- |
| 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВАЖНЕЙШИХ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ | 3 |
| 1.1. Важнейшие результаты | 3 |
| 1.2. Отчеты по проектам по приоритетным направлениям и программам фундаментальных и ориентированных (прикладных) исследований | 7 |
| 1.3. Результаты НИР по проектам с целевым финансированием РАН и Сибирского отделения РАН | 31 |
| 1.4. Результаты НИР по грантам Президента для молодых ученых и ведущих научных школ | 37 |
| 2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЖДУНАРОДНЫХ научных СВЯЗЕЙ | 39 |
| 2.1. О деятельности Международного центра замкнутых экологических систем (МЦ ЗЭС) | 39 |
| 2.2. Результаты НИР по грантам и хоздоговорам с зарубежными заказчиками | 40 |
| 2.3. Зарубежные командировки сотрудников Института | 43 |
| 2.4. Посещение Института зарубежными учеными | 46 |
| 3. НАУЧНО-ОРГАНИЗАЦИОННАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ | 46 |
| 3.1. Работа Ученого совета Института | 46 |
| 3.2. Научные кадры и аспирантура | 46 |
| 3.3. Правительственные и научные награды и премии | 47 |
| 4. ПУБЛИКАЦИИ | 47 |
| 4.1. Монографии | 47 |
| 4.2. Статьи в рецензируемых отечественных журналах | 47 |
| 4.3. Статьи в рецензируемых зарубежных журналах | 50 |
| 4.4. Главы в монографиях зарубежных издательств | 51 |
| 4.5. Статьи и доклады в зарубежных сборниках | 52 |
| 4.6. Статьи и доклады в отечественных сборниках | 52 |
| 4.7. Импакт-фактор ИБФ СО РАН за 2008 г. | 54 |
| Приложение 2. Форма 1. Ежегодные данные об Институте биофизики СО РАН | 55 |
| Приложение 2. Форма 2. Численность сотрудников Института биофизики СО РАН | 57 |
| Приложение 2. Форма 3. Сведения о публикациях Института биофизики СО РАН | 57 |
| Приложение 2. Форма 4. Взаимодействие академической и вузовской науки | 58 |
| Приложение 3. Сведения о деятельности коммерческих и других организаций | 59 |
| Приложение 4. Форма 1. Отчет Института биофизики СО РАН об участии в реализации федеральных целевых, отраслевых и региональных программ | 60 |
| Приложение 4. Форма 2. Сведения об участии Института биофизики СО РАН в реализации федеральных целевых, отраслевых и региональных программ | 61 |

# **1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВАЖНЕЙШИХ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.**

## 1.1. Важнейшие результаты

В 2008 году Институт биофизики СО РАН выполнял НИР по следующим основным направлениям фундаментальных исследований РАН:

43 Экология организмов и сообществ

46 Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов.

47 Молекулярная генетика. Механизмы реализации генетической информации. Биоинженерия.

50 Биофизика. Радиобиология. Математические модели в биологии. Биоинформатика.

51 Биотехнология.

53 Эволюционная, экологическая физиология, системы жизнеобеспечения и защиты человека.

В 2008 году продолжались исследования, запланированные на период с 2002 по 2008 гг., в рамках научного направления «Биофизика и биотехнология живых систем, включая замкнутые искусственные и природные экологические системы, моделирование и прогноз их состояния» по шести бюджетным проектам НИР Института на период 2007-2009 гг. зарегистрированым во ВНТИЦентре с присвоением шифров государственной регистрации. В рамках утвержденных планов НИР по проблемам биофизики экосистем и физико-химической биологии получены следующие важнейшие результаты:

**Проект 6.2.1.12. Распределение и стехиометрия незаменимых биохимических компонентов, биогенных и трансурановых (плутония, америция) элементов в трофических сетях водных экосистем бассейна реки Енисей. Рег. № 01.200703094**

Впервые оценено распределение 241Am по биохимическим фракциям биомассы двух видов водных растений (Рис. 1). Америций, накопленный в биомассе растений, в основном (95±1%) связан с клеточными стенками и мембранами, и лишь небольшая часть 241Am (5±1%) растворена в цитоплазме. Несмотря на отличия в удельном накоплении 241Am, исследованные виды не различались по распределению радионуклида в биомассе. Впервые показано, что липиды содержат не более 1% 241Am, накопленного в биомассе, до 10% 241Am ассоциировано с белками и углеводами, а основная часть 241Am связана с полисахаридами типа клетчатки. Слабое проникновение 241Am в цитоплазму, а также содержание основной доли радионуклида во фракции структурных полисахаридов свидетельствует о преобладании биосорбции в качестве основного механизма накопления 241Am фотоассимилирующими органами макрофитов из водной среды. (*лаб. радиоэкологии, д.б.н. А.Я.Болсуновский*).

Рис. 1. Распределение 241Am по биохимическим фракциям биомассы двух видов водных растений *Fontinalis antipyretica* и *Elodea canadensis*.

**Проект 6.5.1.3. Механизмы катализа в биолюминесцентных реакциях четырех типов светящихся организмов (бактерии, кишечнополостные, черви, светляки): общие закономерности и различия. Рег. № 01.200703093**

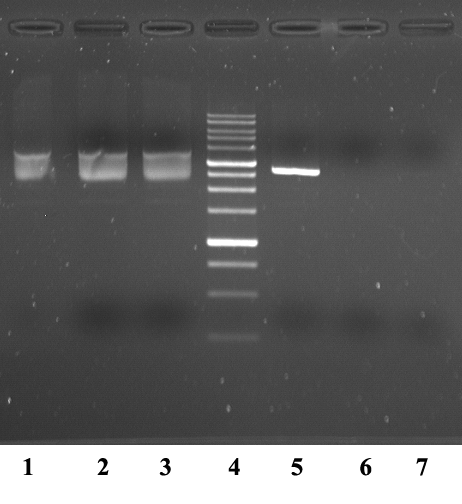
**Разработан одновременный чувствительный биолюминесцентный анализ двух аналитов в одном образце плазмы с использованием в качестве репортеров мутантов рекомбинантного Са2+-активируемого фотопротеина обелина с уникальными спектрами свечения.**

С помощью олигонуклеотид-направленного мутагенеза аминокислот активного центра Са2+-активируемого фотопротеина обелина получены мутанты W92F-H22E и Y138F, обладающие уникальными характеристиками свечения, высокой активностью и стабильностью. Разработан одновременный биолюминесцентный иммуноанализ двух антигенов – фолликулстимулирующего (FSH) и лютеинизирующего (LH) гормонов в сыворотке. Эффективное разделение биолюминесцентных сигналов было осуществлено с помощью широкополостных оптических фильтров, установленных перед детектором двухканального биолюминометра. Без оптимизации условий чувствительность одновременного анализа составила 0,57 mIU/мл (FSH)и 1,1 mIU/мл (LH), что не уступает чувствительности специфического радиоизотопного иммуноанализа (0.5 mIU/мл). (*лаб. фотобиологии, к.б.н. Е.С. Высоцкий*).

|  |  |
| --- | --- |
|  | рис-достижение |
| Рис.2 . **Слева:** спектры биолюминесценции обелинов W92F-H22E и Y138F и спектры пропускания оптических фильтров (I и II), использованных для разделения сигналов.**Справа:** схема проведения одновременного биолюминесцентного иммуноанализа гормонов и полученные результаты. | |

**Проект 6.6.1.3. Изучение физико-химических свойств и биологических эффектов наночастиц абиогенной и биогенной природы как основа создания новых материалов и технологий биологического и медицинского назначения. Рег. номер 01.200703090**

Установлено, что модифицированные наноалмазы: не связывают кольцевые молекулы плазмидной ДНК pUC19, адсорбируют линейные молекулы pUC19 с тупыми концами, полученные после рестрикции исходной кольцевой ДНК pUC19, а также линейные фрагменты ДНК с размерами от 0.25 кb до 10 кb. Количество адсорбированных линейных форм ДНК зависит от величины молекул и размера кластеров наноалмазов. Наиболее вероятным механизмом связывания является образование координационных связей между 5’ - концевым фосфатным остатком (или 3’- концевой ОН группой) линейных молекул ДНК и ионами металла на поверхности наночастиц. Результаты позволяют говорить о возможности применения наноалмазов для разделения кольцевых и линейных форм ДНК и для выделения линейных молекул ДНК.

Рис. 3. Электрофореграмма образцов кольцевой (1-3) и линейной (5-7) форм ДНК pUC19 до и после обработки наноалмазами. На треках: 1 – контрольный образец кольцевой ДНК, 2,3 - образцы после их обработки наноалмазами, имеющими размеры кластеров 30-250 нм и 250-500 нм соответственно, 4 – образец маркерных фрагментов ДНК («ДНК-маркер 1 Kb»), 5 - контрольный образец линейной ДНК, 6,7 - образцы после их обработки наноалмазами, имеющими размеры кластеров 30-250 нм и 250-500 нм соответственно.

**Проект 6.9.1.6. Принцип наихудшего сценария в построении минимальных теоретических и экспериментальных биосферных моделей, согласованных с данными глобальных наблюдений, включая спутниковые.Рег. №01.200703091**

В рамках разработанной математической модели, описывающей широтно-зависимые сезонные изменения скоростей чистой первичной продукции фотосинтеза, поступления органики в почву и почвенного дыхания, показано, что предположение о стационарном состоянии почвы приводит к существенному отклонению распределения углерода по почвенным блокам (Рис.4А) от известных глобальных оценок. В то же время незначительные (до 5%) изменения потоков приводят к заметным (до 16%) изменениям количества углерода в блоке устойчивой почвы и позволяют получить необходимое соответствие (Рис.4Б). Таким образом, сравнение широтно- и сезонно-зависимой модели системы "растения-почва" с известным глобальным распределением углерода по почвенным блокам позволяет выдвинуть гипотезу о том, что стационарное состояние для почвы практически недостижимо.

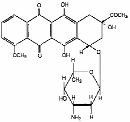
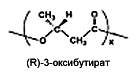
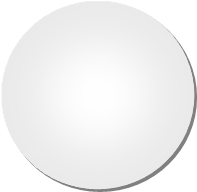


Рис. 4. Стационарные распределения почвенных блоков по широтным поясам. А) стационарные и Б) модифицированные значения констант скоростей реакций.

**Проект 6.10.1.5. Контролируемый синтез резорбируемых полиэфиров и разработка научных основ их применения в качестве матриксов функционирующих клеток и депонирования лекарственных средств. Рег. номер 01.200703092**

Разработана долговременная лекарственная форма лекарственных препаратов в виде микрочастиц из биоразрушаемого полиэфира БИОПЛАСТОТАН, пригодная для различных способов введения. В экспериментах на животных доказана лекарственная эффективность разработанной формы антипролиферативных, антибактериальных и нестероидных противовоспалительных препаратов *(лаб. хемоавтротрофного биосинтеза, д.б.н. Т.Г.Волова).*

Полимерные микросферы с рубомицином



Рубомицин

гидрохлорид

Рис. 5. Принцип конструирования пролонгированных лекарственных форм в виде микрочастиц из биоразрушаемого полиэфира БИОПЛАСТОТАН.

**Проект 6.12.1.3. Экспериментальное и теоретическое моделирование процессов трансформации и перераспределения углеродных соединений в биосистеме с круговоротом вещества, включающей растения и почвоподобный субстрат. Рег. № 01.200703089.**

Для условий биорегенеративных замкнутых экосистем (БЗЭС) зарегистрирован пониженный уровень светового насыщения фотосинтетической продуктивности как С3 (пшеница и редис), так и С4-растений (чуфа), культивируемых на почвоподобном субстрате (ППС), что вызывает недобор потенциально возможного урожая в 2-3 раза по сравнению с гидропоникой. Эффект обусловлен ограничением скоростей образования в ППС доступных для  питания растений минеральных соединений, что лимитирует увеличение синтеза ассимилятов с ростом уровня облученности. Полученный результат выявил принципиальные ограничения использования биологических субстратов для БЗЭС.

Рис. 6. Урожай растений, выращенных на ППС при различной интенсивности ФАР

**1.2. Отчеты по проектам по приоритетным направлениям и программам фундаментальных и ориентированных (прикладных) исследований.**

**Проект 6.2.1.12. Распределение и стехиометрия незаменимых биохимических компонентов, биогенных и трансурановых (плутония, америция) элементов в трофических сетях водных экосистем бассейна реки Енисей (ИБФ). Рег.№ 01.200703094**

Целью проекта является изучение механизмов миграций по трофическим цепям водных экосистем полезных и вредных для человека веществ и определение экологических условий, при которых эффект накопления полезных веществ в конечной продукции, потребляемой человеком, будет превалировать над нежелательными эффектами.

План этапа 2008 г. включал три блока:

1. Продолжение полевых работ на реке, озере и водохранилище с определением содержания ПНЖК, металлов и других элементов в биомассе организмов трех трофических уровней, обобщение материалов биосъемок, полученных в первый год работы.

2. Сравнительный анализ степени биодоступности америция и изотопов плутония для водных растений в лабораторных условиях.

3.Исследование индивидуальных миграций зоопланктона в озерах Шира и Шунет. Расчет интенсивности вертикальных миграций зоопланктона. Сравнительный анализ бактериопланктона серного цикла озер Шира и Шунет с другими стратифицированными озерами.

1. Как известно, в природных экосистемах лишь около 10% органического вещества, продуцируемого на предыдущем трофическом уровне, включается в продукцию последующего трофического уровня, тогда как основная часть этого вещества и заключённой в нём энергии сжигается и рассеивается в процессе метаболизма. Однако, среди общего органического вещества, потоки которого в трофических цепях экспериментально измеряются обычно в единицах углерода или в эквивалентах энергии окисления, можно выделить ряд специфических веществ, сжигание которых в общем котле трат на обмен представляется невыгодным с физиолого-биохимической точки зрения. Например, к таким специфическим веществам могут быть отнесены незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты семейства ω3 (ПНЖК). Среди ПНЖК наибольшее физиологическое значение для всех животных имеют эйкозапентаеновая (20:5ω3, ЭПК) и докозагексаеновая (22:6ω3, ДГК) кислоты, которые играют ключевую роль в регуляции функционирования сердечно-сосудистой системы и в других важнейших физиолого-биохимических процессах. Эти кислоты являются незаменимыми, поскольку большинство животных не способны синтезировать их в достаточных количествах и должны получать с пищей. ЭПК и ДГК синтезируются в основном в водных экосистемах некоторыми группами микроводорослей. Нами была выдвинута гипотеза, согласно которой эффективность передачи по трофической цепи незаменимых ПНЖК должна быть выше, чем общего органического вещества. Подтвердить или опровергнуть гипотезу можно путём сравнения концентраций ПНЖК (ЭПК+ДГК), отнесённых к единице общего углерода (С), в биомассе первичных продуцентов (фитобентоса, фитопланктона) и первичных консументов (зообентоса, зоопланктона). Если гипотеза верна, то отношение (ЭПК+ДГК)/С (мг/г) в биомассе консументов будет достоверно выше, чем в биомассе продуцентов. То есть, при сжигании в процессе метаболизма общего органического вещества, ПНЖК не подвергаются окислению, и их относительная концентрация в биомассе возрастает.

Для проверки гипотезы были проведены многолетние исследования на р. Енисей и на водохранилище Бугач, расположенном на вторичном притоке Енисея. Отношение (ЭПК+ДГК)/С в биомассе фитоперифитона р. Енисей в период с 2004 по 2008 гг. (рис. 1 а) составило в среднем 8.7 ± 2.2 мг/г, тогда как для гаммарид, личинок ручейников и хирономид средние отношения были 25.5 ± 2.8 мг/г, 29.2 ± 3.5 мг/г и 31.5 ± 4.7 мг/г соответственно. Все различия (рис. 7 а) оказались статистически достоверными по парному критерию Стьюдента: для фитоперифитона с одной стороны и гаммарид, личинок ручейников и хирономид с другой стороны значения t составили 6.84, 5.41 и 5.42 при числе пар 26, 23 и 19 соответственно. В биомассе фитопланктона водохранилища Бугач в 2007-2008 гг. отношение (ЭПК+ДГК)/С составило в среднем 7.8 ± 0.7 мг/г, а в биомассе зоопланктона 21.0 ± 2.1 мг/г (рис. 7 б). Различия были достоверны по парному критерию Стьюдента: t = 6.41 при числе пар 37.



Рис. 7. Отношение суммарных концентраций эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот к органическому углероду в биомассе первичных продуцентов и консументов (оси ординат, мг/г) в различные даты отбора проб (ось абсцисс): а – литоральная станция на р. Енисей (55о 58’ с.ш. 92 о 43’ в.д.), белые столбики – фитоперифитон, чёрные – гаммариды, штрихованные – личинки ручейников, серые – личинки хирономид; б – водохранилище.

Таким образом, относительная концентрация длинноцепочечных ПНЖК в биомассе бентосных и планктонных животных, практически не способных к синтезу этих кислот, оказалась в среднем в три раза выше, чем их концентрация в биомассе бентосных и планктонных водорослей, синтезирующих ω3 ПНЖК de novo. Обнаруженное увеличение концентраций ПНЖК в биомассе консументов возможно только в том случае, если данные вещества, поступающие исключительно с пищей, подвержены окислению в меньшей степени, чем остальное органическое вещество. Следовательно, впервые получены доказательства, что эффективность переноса по трофической цепи отдельных групп физиологические важных веществ может быть выше, чем эффективность переноса общего органического вещества.

2. В предыдущих экспериментах по оценке интенсивности накопления биомассой элодеи 242Pu был получен максимальный коэффициент накопления 242Pu равный 13800±5000 л/кг. Полученное значение коэффициента накопления 242Pu биомассой элодеи совпадает с коэффициентом накопления для 241Am – 17100±4300 л/кг, который мы получили ранее для длинных побегов элодеи. Однако, для коротких побегов (верхушки длиной 3 см), которые мы использовали в экспериментах с 242Pu значение коэффициента для 241Am в два раза меньше - 5300±1100 л/кг (Bolsunovsky et al., 2005). Учитывая возможное влияние измененного химического состава воды реки Енисей и физиологическое состояния биомассы элодеи в разных экспериментах с 242Pu и 241Am, нами был проведен эксперимент с одновременным внесением изотопов в разные емкости с элодеей. Тем самым исключался эффект качества воды и состояния растений при сравнении накопления 242Pu и 241Am. Проведенные эксперименты показали, что спустя 2 суток процесс накопления 242Pu и 241Am выходит на стационарный уровень. В этих экспериментах коэффициент накопления 242Pu составил 8100±450, коэффициент накопления 241Am – 7100±510, т.е. коэффициенты равны с учетом ошибки. Для оценки степени связанности 242Pu и 241Am в биомассе элодеи (биодоступности), побеги элодеи подвергали химическому разделению, согласно использованной методике фракционирования. Исследования содержания 242Pu в биомассе показали (Рис.2), что спустя двое суток в обменной фракции содержится 36% общего 242Pu, в адсорбционной фракции - 23% 242Pu, в органо- минеральном остатке - 41% 242Pu. В процессе накопления 242Pu биомассой элодеи (на 4 и 7 сутки опыта) доля 242Pu в органо- минеральном остатке несколько возросла и достигла 47-51% общего содержания 242Pu в биомассе. Исследования содержания 241Am в биомассе показали (Рис.8), что спустя двое суток в обменной фракции содержится 29% общего 241Am, в адсорбционной фракции - 42% 241Am, в органо- минеральном остатке - 29% 241Am. В процессе накопления 241Am биомассой элодеи (на 4 и 7 сутки опыта) доля 241Am в органо- минеральном остатке почти не изменилась и составила 31-33% общего содержания 241Am в биомассе. Таким образом, несмотря на одинаковые значения коэффициента накопления, максимальная доля 242Pu в органо- минеральном остатке биомассы элодеи (51%) оказалась выше, чем доля 241Am (33%). В ранее проведенных экспериментах доля 242Pu в органо- минеральном остатке биомассы элодеи в среднем составляла 43%, но в отдельных случаях доходила до 60%. Доля 241Am в органо- минеральном остатке в ранее проведенных опытах (Bolsunovsky et al., 2005) не превышала 27%. Следовательно, по всей совокупности имеющихся данных проведенных экспериментов, плутоний оказался более биодоступен чем америций для биомассы элодеи.

Различия в степени биодоступности плутония и америция могут быть объяснены разными окислительно-восстановительными свойствами радионуклидов и их стабильностью. В отличие от америция, для которого стабильной формой существования в окружающей среде является только Am(III), плутоний может существовать в четырех окислительных формах: Pu(III), Pu(IV), Pu(V), Pu(VI). В этом случае, соединения Pu в значительной степени отличаются по растворимости, устойчивости и, следовательно, степени аккумулирования твердыми поверхностями, в том числе и биологическими объектами. В результате окислительно-восстановительных процессов, протекающих на клеточных мембранах водных растений, Pu(V) за счет биовосстановления может перейти в Pu(IV). Тем самым Pu будет более прочно удерживаться структурами биологических объектов, за счет образования малорастворимых соединений Pu(IV). В дальнейшем в поровом пространстве адсорбированного осадка и на поверхности клеточных мембран могут протекать различные физико-химические и биохимические процессы, в результате которых валентность плутония может опять измениться до более высокой (например, Pu(V)) с образованием соединений с высокой растворимостью и, следовательно, способных к переносу внутрь биомассы. Следовательно, накопление Pu протекает за счет процессов биовосстановления, биосорбции и (или) биосоосаждения. Поскольку Am (III) степень окисления не меняет, накопление его водными растениями связано преимущественно только с процессами биосорбции и (или) биосоосаждения. Это подтверждается частично нашими данными химического фракционирования биомассы, из анализа которых следует, что большая часть накопленного 241Am обнаружена в адсорбционной фракции, в то же время для 242Pu связывание с этой фракцией не является доминирующим. Обменная фракция во всех случаях играет роль диффузного слоя, в который переносятся радионуклиды из слоя экспериментальной жидкости за счет градиента концентраций.



Рис.8. Динамика распределения накопленного в течение эксперимента 242Pu и 241Am биомассой элодеи между химическими фракциями: I – обменная фракция;

II – адсорбционная фракция; III + IV – органо- минеральный остаток.

3. В экспериментах *in situ* с выделенными объемами (длина 15м) в озере Шира были зафиксированы интенсивные восходящие индивидуальные миграции доминирующего в зоопланктоне веслоногого рачка *Arctodiaptomus salinus*: за 10 часов порядка 60% рачков перемещаются из гиполимниона в эпилимнион (масштаб миграций не менее 3 метров) и порядка 30% рачков совершают вертикальные миграции на расстояние не менее 5м. Интенсивность нисходящих миграций была значительно ниже – на расстояние более 5 метров (на горизонт 10.5м) за 10 часов мигрировало всего лишь 1-2% рачков, при этом через термоклин мигрировало порядка 18% рачков. Толща воды озера Шира была стратифицирована, в озере также наблюдался глубинный (8-9м) максимум концентрации хлорофилла «а». Популяция *A. salinus* в озере была распределена неоднородно: 40% биомассы популяции находилось над термоклином и 60% под ним, при этом около половины рачков гиполимниона было сосредоточено на глубине 8м, а на глубинах 10-11 метров находилась наименьшая доля популяции (около 11% биомассы).

В эксперименте *in situ* с выделенными объемами (длина 4 метра) в озере Шунет в пределах оксигенной толщи интенсивность восходящих и нисходящих миграций составила 12-13% от общей биомассы популяции *A.salinus*. В отличие от озера Шира, в озере Шунет доступная для обитания зоопланктона оксигенная толща воды практически однородна по своим физико-химическим характеристикам. Результаты экспериментов подтверждают наличие и адаптивный смысл индивидуальных миграций с целью оптимизации роста и размножения в многомерном пространстве параметров: 1) в обоих озерах зафиксированы интенсивные индивидуальные миграции зоопланктона при стабильном вертикальном распределении популяции; 2) в озере Шунет интенсивность индивидуальных миграций оказалась менее выраженной чем в озере Шира, т.к. энергетические затраты на миграции в гомогенной среде нецелесообразны, 3) наименьшая интенсивность индивидуальных миграций зафиксирована в наименее привлекательное местообитание в озере Шира.

Методом анализа DGGE фрагментов 16SрДНК, полученных с помощью ПЦР с универсальными бактериальными праймерами, был получен состав доминирующих видов бактерий в хемоклине озер Шира и Шунет. Выполнен филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей (Рис. 9). Среди выявленных доминирующих групп эубактерий непосредственными участниками биотического круговорота серы являются аноксигенные фототрофные бактерии семейств *Chromatiaceae* (пурпурные серные бактерии) и *Chlorobiaceae* (зеленые серные бактерии). Доминирующий вид зеленых серных бактерий, выявленный c помощью DGGE, отличался от штамма *Prosthecochloris* ShNPel02, ранее выделенного на селективной среде из озера Шунет (Лунина и др., 2007) (98 % сходства). Уровень сходства с ближайшим типовым штаммом *Prosthecochloris vibrioformis*, выделенным из меромиктических озер Испании (Triado-Margarit et al., неопубликовано) также не превышал 98 %. Среди пурпурных бактерий выделенный нами на селективной среде штамм *Tiocapsa sp.* Shira\_1 (AJ633676) более чем на 99 % совпал со штаммом, выделенным ранее из оз. Шунет и был отмечен в профилях DGGE озер Шира и Шунет. Таким образом, в обоих озерах доминирующие пурпурные серные бактерии относились к роду *Thiocapsa*. Бактерии данного рода населяют хемоклин стратифицированных озер, например оз. Каданьо (Швейцария), South Andros Black Hole (Багамские о-ва). Виды, доминирующие в оз. Шира и Шунет, отличаются от типовых штаммов этого рода наличием газовых вакуолей и каротиноида окенона, аналогично озеру Махони (Канада). Таким образом, показано, что доминирующие виды пурпурных серных бактерий в озерах Шира и Шунет филогенетически почти идентичны, несмотря на ряд различий физико-химических условий существования. Виды зеленых серных бактерий, населяющие оз. Шунет, филогенетически близки к видам из похожих озер мира. Вместе с тем, виды пурпурных серных бактерий, населяющие озера Шира и Шунет, морфологически отличаются от ближайших родственных видов из других озер наличием газовых вакуолей и составом каротиноидов.



Рис.9. Филогенетическое дерево основных представителей домена Bacteria, выявленных по профилям DGGE фрагментов 16SрДНК в хемоклине озера Шунет.

## Проект 6.5.1.3. Механизмы катализа в биолюминесцентных реакциях четырех типов светящихся организмов (бактерии, кишечнополостные, черви, светляки): общие закономерности и различия. № 01.200703093

Цели этапа 2008 г.:

1. Выяснение структуры метаболического пути, приводящего к восстановлению флавинового субстрата бактериальной люциферазы, основанное на исследовании темновых мутантов светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* и рекомбинантных штаммов *E. coli*.

2. Исследование устойчивости люциферазы почвенных энхитреид *Fridericia heliota* и способов стабилизации ее функциональной активности различными протектантами.

3. Исследование с помощью олигонуклеотид-направленного мутагенеза функциональной роли аминокислот активного центра Са2+-регулируемых фотопротеинов в образовании стабильного в отсутствие ионов кальция комплекса из целентеразина, апобелка и кислорода.

4. Сравнительные исследования взаимодействия флуоресцентных галоидсодержащих красителей с ферментами различных люминесцентных организмов – бактерий, светляков, кишечнополостных.

1. Если метаболические пути синтеза альдегидного субстрата бактериальных люцифераз у разных видов светящихся бактерий достаточно интенсивно исследовались, то метаболические пути восстановления флавинового субстрата практически не исследованы, поскольку считается, что его восстановление связано с функционированием бактериальной дыхательной цепи.

Ранее нами были получены светящиеся экстракты из *P. leiognati* с уровнем люминесценции, сравнимым с нативными бактериями. Исследование этих экстрактов позволило предложить новую схему метаболической организации люминесцентной системы у светящихся бактерий, в соответствии с которой восстановление природного флавинового субстрата связано с функционированием альдегиддегидрогеназы длинноцепочечных алифатических альдегидов. Были получены также данные, что природный флавиновый субстрат бактериальной люциферазы является флавопротеином, а не свободным восстановленным флавинмононуклеотидом.

Однако хорошо известно, что ген альдегиддегидрогеназы не входит в состав Lux-оперона, хотя ее синтез в периодической культуре коррелирует с синтезом бактериальной люциферазы и люминесценцией бактерий. В оперон не входит и какой-либо белок, могущий служить флавопротеином, субстратом люциферазы.

Тем не менее, для инициирования люминесценции в штаммах *E. coli* достаточно перенести в нее из светящихся бактерий только люминесцентный оперон, кодирующий гены бактериальной люциферазы и ферментов синтеза ее альдегидного субстрата. Возникает вопрос о структуре метаболических путей восстановления флавинового субстрата и о природе самого субстрата, функционирующих в *E. сoli*.

Нами были исследованы два рекомбинатных штамма *E. сoli*. Первый штамм содержал плазмиду только с генами бактериальной люциферазы из *P. leiognathi* и не обладал свечением. Второй штамм имел плазмиду с люминесцентным опероном, также из *P. leiognathi*, и обладал свечением. Свечение в первом штамме можно было инициировать добавлением экзогенного альдегида. Это свидетельствует, что все необходимое для восстановления флавинового субстрата бактериальной люциферазы в *E. сoli* имеется.

Далее были получены и исследованы люминесцирующие экстракты из рекомбинантного светящегося штамма *E. coli*. Исследование этих экстрактов показало, что метаболическая организация биолюминесценции в рекомбинантном светящемся штамме идентична ее организации в исходном диком штамме и связана с функционированием альдегиддегидрогеназы длинноцепочечных алифатических альдегидов, о наличии которой в *E. сoli* ранее не сообщалось. Вероятно, это обычная альдегиддегидрогеназа.

На следующем этапе нами были получены из *P. leiognathi* темновые мутанты с нарушенным путем восстановления флавинового субстрата люциферазы. Эти мутанты были разделены на два типа. Мутанты первого типа не имели работоспособного флавинового субстрата. Добавление флавинмононуклеотида сразу восстанавливало люминесценцию экстрактов. У мутантов второго типа, вероятно, отсутствовала альдегиддегидрогеназа, поскольку экзогенный альдегид не стимулировал люминесценцию экстрактов, однако люминесценцию можно было наблюдать при одновременном внесении в экстракты альдегида и NADH.

Таким образом, получены прямые данные в пользу справедливости схемы восстановления флавинового субстрата люциферазы с участием альдегиддегидрогеназы длинноцепочечных алифатических альдегидов.

2. Исследование устойчивости люциферазы почвенных энхитреид *F. heliota* и способов стабилизации её функциональной активности показало, что причиной инактивации не является окисление SH-групп фермента. Известные ферментные протектанты: ЭДТА, дитиотреитол, β-меркаптоэтанол не оказывают никакого эффекта на устойчивость люциферазы к воздействию инактивирующих факторов в процессе ее очистки. При этом отмечен стабилизирующий эффект БСА на люциферазу при концентрации последней менее 1 мг/мл. Добавление глицерина к препарату люциферазы до 10% увеличивает ее стабильность более чем вдвое при хранении фермента при отрицательных температурах.

Установлено, что причинами плавного снижения суммарной активности люциферазы в процессе многостадийной очистки являются ее термонестабильнось (при низкой концентрации в условиях комнатной температуры она способна инактивироваться в течение дня) и чувствительность к воздействию высокого рН (9.1) на этапе анионообменной хроматографии. Корректировка рН в пределах 7-8 позволила ввести еще один этап очистки – гель-фильтрацию на ASA-44.

Доказано, что основная причина фатального падения активности люциферазы на финальных стадиях очистки – диссоциация люциферазы *F. heliota* до мономерного состояния, при этом ее молекулярная масса меняется от 60 до 28 кДа..

3. Для выявления ключевых аминокислотных остатков в целентеразин-связывающей полости апофотопротеинов, играющих важную роль в формировании стабильного активного комплекса, методом олигонуклеотид-направленного мутагенеза было получено 36 мутантов акворина и обелина с заменами His175, Trp179 и Tyr190 на аминокислотные остатки с различными донорно-акцепторными свойствами боковых цепей. Практически все замены привели к существенному снижению биолюминесцентной активности полученных белков, однако для ряда соответствующих мутантов акворина и обелина наблюдаются различные эффекты при одинаковых заменах (Табл. 1). Показано, что мутанты обелина и акворина с заменой Tyr190 и Tyr191, ОН группа которых формирует водородную связь с 2-гидроперокси группой целентеразина и которая, как считается, стабилизирует 2-гидропероксицелентеразин внутри субстрат-связывающей полости, на фенилаланин формируют достаточно стабильный фотопротеиновый комплекс и сохраняют 14 и 22% активности фотопротеинов дикого типа соответственно. Различные результаты, полученные на мутантах акворина и обелина, свидетельствуют о сложных кооперативных эффектах произведенных замен, несмотря на значительную идентичность аминокислотных последовательностей акворина и обелина, а также пространственных структур. Для всех полученных мутантов обелина и акворина показана люциферазо-подобная биолюминесцентная активность, проявляющаяся в течение инкубации апобелков с целентеразином в отсутствии кальция. Кроме того, было показано, что по мере снижения активности мутантов в спектре поглощения исчезает максимум на 460 нм (полоса поглощения 2-гидропероксицелентеразина) и увеличивается пик на 350 нм (поглощение целентерамида – продукта реакции). Таким образом, замена одного из вышеуказанных аминокислотных остатков приводит к формированию нестабильного фотопротеинового комплекса. Отмечается также появление плеча на 380 нм в спектрах биолюминесценции ряда мутантов акворина, что говорит о присутствии нейтральной формы целентеразина, типичной для обелина дикого типа. Значительные изменения наблюдаются и во флуоресцентных свойствах мутантов. Например, для многих из них характерна ярко выраженная бимодальная флуоресценция. Ранее считалось, что His175, Trp179 и Tyr190 не влияют на формирование эмиттера. Однако, исходя из спектральных свойств полученных мутантов, можно предположить, что эти аминокислоты могут влиять на спектральные свойства через изменение ориентации молекулы целентеразина в субстрат-связывающей полости фотопротеинов, приводящей к нарушению сети водородных связей, влияющей на формирование эмиттера.

Таблица 1. Биолюминесцентные активности мутантов акворина и обелина.

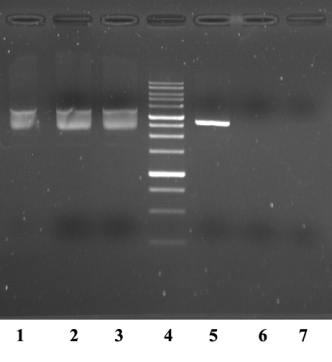
|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Obelin  mutant | Activity, % relative to WT | Activity, % relative to WT | Aequorin  mutant |
| WT | 100 | 100 | WT |
| W179K | 0,7 | 0,18 | W180K |
| W179E | 0,6 | 0,004 | W180E |
| W179A | 0,02 | 0,03 | W180A |
| **W179Y** | **23** | **0,25** | **W180Y** |
| W179R | 0,02 | 0,001 | W180R |
| **W179F** | **67,0** | **3,5** | **W180F** |
| **H175Q** | **0,8** | **23,8** | **H176Q** |
| H175N | 1,7 | 3,3 | H176N |
| H175A | 0,5 | 0,18 | H176A |
| H175E | 0,2 | 0,024 | H176E |
| H175D | 0,01 | 6,0 | H176D |
| H175R | 0,02 | 0,76 | H176R |
| H175Y | 0,3 | 0,16 | H176Y |
| H175F | 0,3 | 0,98 | H176F |
| Y190R | 0,01 | 0,4 | Y191R |
| Y190K | 0,03 | 1,0 | Y191K |
| **Y190F** | **14,3** | **22,0** | **Y191F** |
| Y190E | 1,9 | 1,5 | Y191E |

4. Исследованы взаимодействия низкомолекулярных органических галоидсодержащих соединений с белками. Данные взаимодействия лежат в основе их токсического действия. В качестве модельных белков выбраны люциферазы трех организмов – морских бактерий *P. phosphoreum,* светляков *Luciola minglelica* и гидроидного полипа *Obelia longissima*. В качестве модельных галоидсодержащих соединений использован ряд гомологичных ксантеновых красителей – флуоресцеин, эозин, эритрозин, включающий бром- и иод-производные ксантена. Проанализированы спектры флуоресценции и анизотропии флуоресценции красителей при различных концентрациях ферментов. Использованы такие характеристики, как фундаментальная, экспериментальная и максимальная анизотропии для каждой пары краситель-фермент. Показано, что с ростом размера белковой молекулы в ряду обелин – бактериальная люцифераза – светляковая люцифераза рассчитанная максимальная анизотропия флуоресценции (из расчета жесткого связывания с красителя с ферментом) красителя увеличивается. В качестве основной количественной характеристики связывания красителей с ферментами использовано отношение экспериментальной анизотропии к максимально возможной анизотропии для каждой пары краситель-фермент. На основе анализа этого соотношения показано, что эффективность связывания красителей с каждым из ферментов увеличивается с ростом массы галоида в составе молекулы в ряду флуоресцеин, эозин, эритрозин. При этом зафиксированы сдвиги спектров флуоресценции бром- иод-содержащих красителей в красную область на 4-6 нм. Полученные результаты демонстрируют механизм воздействия галоидсодержащих соединений на ферментативные системы – так называемый «эффект тяжелого атома» в ферментативных реакциях.

### Проект 6.6.1.3. Изучение физико-химических свойств и биологических эффектов наночастиц абиогенной и биогенной природы как основа создания новых материалов и технологий биологического и медицинского назначения. Рег. номер 01.200703090 (руководитель проекта: академик РАН И.И. Гительзон)

**Блок 1 Этап 2 (2008г.)**. Изучение основных характеристик процессов адсорбции различных маркерных соединений биологической и небиологической природы на наноалмазы детонационного синтеза. Исследование факторов целенаправленного изменения химии поверхности наночастиц.

1. Исследованы основные характеристики процессов адсорбции маркерных соединений биологической (белки (люцифераза), ДНК, афлатоксин В1) и небиологической (ионы двухвалентных металлов (Cu, Co и Ni), радиоактивная метка (J125)) природы на частицах модифицированных наноалмазов (МНА), обладающих высокой коллоидной устойчивость в дисперсионных средах и обладающих разными размерами кластеров. Показано, что процесс адсорбции различных соединений является многофакторным и может зависеть: от размера кластеров наночастиц, соотношения наноматериал - адсорбируемое вещество, условий среды (состав буферной системы, рН, солевой состав), разных механизмов взаимодействия молекул с поверхностью наночастиц.

2. Установлено, что МНА: не связывают кольцевые молекулы плазмидной ДНК pUC19 (Рис. 1), адсорбируют линейные молекулы pUC19 с тупыми концами, полученные после рестрикции исходной кольцевой ДНК pUC19 (Рис 10), а также линейные фрагменты ДНК с размерами от 0.25 кb до 10 кb (Рис. 11). Показано, что количество адсорбированных линейных форм ДНК зависит от величины молекул и размера кластеров наноалмазов. Высказано предположение, что наиболее вероятным механизмом связывания является образование координационных связей между 5’ - концевым фосфатным остатком (или 3’- концевой ОН группой) линейных молекул ДНК и ионами металла на поверхности наночастиц. При этом установлено, что наночастицы имеющие размеры кластеров 30-250 нм связывают линейные формы ДНК более эффективно по сравнению с наноалмазами, имеющими размеры кластеров 250-500 нм. Показано, что наноалмазы с меньшими размерами кластеров содержат на своей поверхности в 3 раза больше примесей железа и меньше неалмазных форм углерода по сравнению с наноалмазами, имеющими большие размеры кластеров.

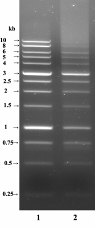
Рис. 10. Электрофореграмма образцов кольцевой (1-3) и линейной (5-7) форм ДНК pUC19 до и после обработки наноалмазами. На треках: 1 – контрольный образец кольцевой ДНК, 2,3 - образцы после их обработки наноалмазами, имеющими размеры кластеров 30-250 нм и 250-500 нм соответственно, 4 – образец маркерных фрагментов ДНК («ДНК-маркер 1 Kb»), 5 - контрольный образец линейной ДНК, 6,7 - образцы после их обработки наноалмазами, имеющими размеры кластеров 30-250 нм и 250-500 нм соответственно.

Рис. 11. Электрофореграмма линейных фрагментов ДНК, содержащихся в препарате «ДНК-маркер 1 Kb» до (1) и после его обработки наноалмазами, имеющими размеры кластеров 30-250 нм (2).

3. Выявлены три варианта взаимодействия светоизлучающего фермента – люциферазы (гетеродимерный рекомбинантный белок из бактериальных клеток E. coli) с поверхностью МНА. Показано, что молекулы фермента могут адсорбироваться на поверхности наночастиц посредством: лабильного связывания с сохранением каталитической функции и возможностью последующей десорбции (около 40% молекул); прочной адсорбции с сохранением ферментативной активности и невозможностью элюции (примерно 15% молекул); прочного, вероятно многоточечного, связывания фермента с утратой его активности (около 40-45% молекул). Это может свидетельствовать в пользу как разных механизмов взаимодействия молекул белка с поверхностью наночастиц, так и о различиях в поверхностных свойствах самих молекул рекомбинантного белка. В исследованиях установлено также, что при выбранных условиях (состав, молярность и рН буферной системы) НАД(Ф)Н:ФМН-оксидоредуктаза (второй фермент светоизлучающего комплекса люцифераза - оксидоредуктаза) не адсорбируется на поверхности модифицированных наноалмазов.

4. Исследованы адсорбционные характеристики МНА к афлатоксину В1 (АфВ1). Установлено, что дополнительная обработка МНА белками, ДНК, многокомпонентными биологическими смесями, ионами металлов, денатурирующими агентами и т.д., не позволяет повысить сорбционные характеристики наночастиц к АфВ1, кроме наночастиц, содержащих иммобилизованный гуанин. Обнаруженный эффект каталитической активности МНА в органических реакциях и развитие исследований в этом направлении позволили установить эффект инактивации АфВ1 под действием наночастиц. Показано, что инкубация АфВ1 в присутствие МНА и перманганата калия, как окислителя, существенно (до 60-65%) повышает адсорбцию микотоксина по сравнению с контролем (Рис. 12). Аналогичная инкубация с добавлением перекиси водорода приводит к еще большей выраженности наблюдаемого эффекта – практически полное отсутствие основного спектрального пика АфВ1 (Рис. 12). Высказано предположение о том, что механизм деструкции АфВ1 под действием МНА в присутствие окислителей связан с расщеплением лактонового кольца, входящего в структуру молекулы микотоксина. Нельзя исключить, что параллельно катализу может происходить более эффективная адсорбция активированных молекул АфВ1 наночастицами. Выяснение механизмов наблюдаемых эффектов требует дальнейших исследований.



Рис.12. Спектральные характеристики АфВ1 до и после его обработки МНА и МНА в присутствии перманганата калия (А); перманганата калия (150 и 200 мкМ) и перекиси водорода (Б).

5. Исследованы процессы адсорбции радиоактивной метки J125 на поверхности МНА. Показано in vitro, что количество адсорбированной метки зависит от поверхностных свойств наночастиц. Установлено, что при одинаковых условиях эксперимента (время инкубации, температура среды, исходная радиоактивность и т.д.) количество адсорбированного J125 на исходные МНА составляет 10,1%; на наночастицы, предварительно обработанные HCl – 31,6%, NaOH – 3,4%, ЭДТА – 5,1 %. В предварительных экспериментах in vivo показано, что после подкожного и внутримышечного введения полученного комплекса МНА-J125 животным (мыши) наблюдается снижение активности метки, причем в мышечной ткани этот процесс происходит примерно в 2 раза быстрее. Высказано предположение о том, что наблюдаемый эффект связан с десорбцией J125 с поверхности наночастиц и зависит от скорости метаболических процессов, происходящих в тканях.

6. Показано, что частицы МНА адсорбируют из водных растворов ионы двухвалентных металлов Cu, Co и Ni. При этом выявлено, что наночастицы обладают примерно одинаковой сорбционной емкостью к перечисленным ионам, которая составляет для ионов меди диапазон 20 - 30 мкг на 1 мг МНА, для ионов кобальта и никеля 18 – 30 мкг/мг соответственно. Показано, что предварительная обработка наночастиц белками, повышает сорбционную емкость наноматериала к ионам Cu примерно в 2 раза.

**Блок 2 Этап 2 (2008г.).** Поиск путей направленного синтеза гетерогенного ядра бактериального ферригидрита (*Klebsiella oxytoca*), включающего Co, Mn, Ni и др. металлы. Анализ накопления и локализации бактериального ферригидрита. Поиск новых штаммов – потенциальных продуцентов суперпарамагнитного ферригидрита.

Природный ферригидрит способен связывать ионы других элементов путем включения в кристаллическую решетку или адсорбцией. Легирование наночастиц ферригидрита модифицирует характеристики как его собственные (структурные, магнитные, сорбционные и каталитические), так и синтезируемых на его основе наночастиц. Выяснение путей и закономерностей модификации биогенных частиц позволит существенно увеличить область их использования. Для получения биогенного легированного ферригидрита в питательную среду бактерии *Klebsiella* oxytoca вводили соли металлов (гадолиния, кобальта и алюминия). Процесс проводили в микроаэрофильных условиях. Образовавшиеся частицы гидроксида железа выделяли по отработанной для этой культуры методике (дезинтеграция ультразвуком, центрифугирование). В результате исследований полученных наночастиц установлено, что вносимые в среду металлы включаются в структуру кристалла ферригидрита.

На Рис. 13 приведены измеренные при 4,2K кривые намагничивания биогенного ферригидрита во внешнем магнитном поле. Намагниченность возрастает с увеличением содержания гадолиния в питательной среде. Кривые намагничивания М(Н) и температурные зависимости намагниченности измерялись с помощью вибрационного магнетометра со сверхпроводящим соленоидом.



Рис. 13. Зависимость намагниченности (M) биогенного ферригидрита, с включением гадолиния, от внешнего магнитного поля (kOe)

По мессбауэровским спектрам установлено, что при увеличении содержания Gd в питательной среде, в ферригидрите, производимом бактериями, возникают новые позиции железа с различной степенью искажения локального окружения. Это говорит о том, что Gd входит в ферригидрит. При меньшей испытанной концентрации Gd в питательной среде внедренный гадолиний приводит к расширению кристаллической решетки ферригидрита, что проявляется как увеличение изомерного химического сдвига для всех позиций ферригидрита или уменьшение электронной плотности на ядрах железа. При увеличении содержания Gd до 0.057 г/л происходит насыщение встраивания гадолиния в межслойные позиции. Предполагается, что гадолиний начинает входить в октаэдры одиночных слоев, вытесняя оттуда железо и создавая новые позиции Fe(5). При дальнейшем увеличении гадолиния в среде он вытесняется из структуры ферригидрита, чтобы на основе одиночных слоев создать новую кристаллографическую фазу, в которой наблюдаются два типа гематитоподобных позиции Fe(3).

Таким образом, показано, что возможен контролируемый синтез модифицированных наночастиц ферригидрита путем введения в его структуру элементов металлов, придающих ему специфичные свойства.

Ферритин, в ядре которого находится ферригидрит, выделялся из биомассыразрушенных ультразвуком бактерий *Klebsiella oxytoca.* В результате последовательной серии выделения и очистки получен чистый ферритин. По данным гель-электрофореза, ферритин, после второй хроматографии, не содержал посторонних белковых примесей. По мере очистки получаемый ферритинсодержащий образец исследовался на наличие магнитных свойств. Оказалось, что фериригидрит в очищенном образце составляет только долю (существенно меньшую) от его общего содержания в биомассе. Характеристики второй фракции ферригидрита оказались идентичны. В связи с этим отработана методика выделения биогенного ферригидрита не связанного с ферритином.

Из культуры гетеротрофных бактерий выщелачивающих железо и другие элементы из бокситов селективно выделена смешанная культура также образующая ферригидрит. По предварительным оценкам частицы гидроксида железа имеют размер 2 – 7 нм. В общем магнитные характеристики аналогичны тем, что были получены для ферригидрита из культуры *Klebsiella* oxytoca. Скорость накопления ферригидрита с помощью этих бактерий увеличивается многократно (в 10 и более раз). Из этой смешанной культуры выделены две чистых культуры бактерий.

**Проект 6.9.1.6. Принцип наихудшего сценария в построении минимальных теоретических и экспериментальных биосферных моделей, согласованных с данными глобальных наблюдений, включая спутниковые. Рег. №01.200703091**

БЛОК 1. Теоретический анализ и математическое моделирование процессов в биосфере. (Отв. исполнители чл.-к. РАН, Дегерменджи А.Г., д.ф.-м.н. Барцев С.И.)

Почва является одним из ключевых элементов в системе обратных связей системы "биосфера-климат". От характерных времен глобального отклика почвенного дыхания на повышение температуры существенно зависит сценарий возможных изменений в биосфере. Почвенное дыхание и фотосинтез северных широт в глобальном масштабе проявляют себя в сезонных колебаниях атмосферной концентрации СО2. Сопоставление параметров эти колебаний с данными о широтном распределении различных типов почв, осуществляемое посредством математической модели потоков углерода в системе "фотосинтетики-почва-атмосфера" позволяет, в принципе, получить оценку характерных времен отклика различных компонентов почвы. Почва разделяется на стандартные блоки: легко окисляемый детрит (опад и его разлагатели); мобильная почва (подстилка, остатки корней); устойчивая почва (трудно-окисляемый гумус) с соответствующими временами пребывания углерода: 1,8 года, 80 лет, 577 лет. Схема потоков углерода и обозначения констант скоростей реакций приведены на Рис.14 (Harvey, 1989).

Для оценки сезонной интенсивности почвенного дыхания в модели необходимо описать широтную зависимость сезонной температуры. По модифицированному графику зависимости средних температур в северном полушарии от широт по С.П. Хромову и Л.И. Мамонтовой, и по сглаженным значениям сезонных температур получена хорошая аппроксимация зависимости среднемесячной температуры широтного круга от широты. Это позволило получить формулы сезонного изменения ЧПП, поступления органики в почву и почвенного дыхания в данном широтном круге. Сложность модели приводит к необходимости проводить численное исследование модели. На рис.15 показана динамика сезонных изменений количества углерода в фитомассе и детрите на широте 50о с.ш.



*k6*

*Def(ϕ, t)*

***0,87***

***0,12***

***0,01***

Фитомасса (B)

Рис.14. Схема потоков углерода и обозначения констант скоростей реакций.



Рис.15. Нормализованный график сезонных изменений фитомассы (    ) и детрита ( ).

На этой же широте сезонные изменения суммарного потока углерода в атмосферу показаны на рис.16.



Рис.16. Суммарный поток углерода в атмосферу.

Сложный вид данной зависимости позволяет использовать для верификации модели данные по прямому измерению суммарного потока хотя бы в одном из широтных поясов.

Исключительно важным для верификации модели является сопоставление полученных в модели поширотных стационарных распределений количества углерода в почвенных блоках (Рис.4) с данными прямых измерений.

Следует отметить, что при соотношениях констант скоростей реакции, соответствующих предположению о стационарности существующих почвенных блоков, среднее отношение количества углерода в мобильной почве к детриту в модели (M/D=6,8)М достаточно близко к известным глобальным оценкам (M/D=7,3). Однако для устойчивой почвы (R/D=7,0)М и (R/D=8,3) соответствие существенно хуже (Рис.17А). В то же время незначительные (в пределах 5%) изменения соответствующих констант позволяют получить необходимое соотношение (Рис.17Б), причем изменение количества устойчивой почвы по широтам варьирует в пределах 11-16%.



**А)**



**Б)**

Рис.17. Стационарные распределения почвенных блоков по широтным поясам. А) стационарные и Б) модифицированные значения констант скоростей реакций.

На основе вышесказанного можно сделать следующие выводы.

1. Стационарные оценки соотношений констант скоростей реакций в почве не подходят для адекватного описания системы, претерпевающей сезонные изменения, что порождает запрос к экспериментаторам на оценку потоков углерода в течение сезона. Без этого инкапсуляция почвенного блока представляется преждевременной.
2. Высокая чувствительность блоков почвы к величинам потоков их формирующих позволяет предположить, что почва практически никогда не находится в стационарном состоянии, поскольку темпы изменений климата сопоставимы характерными временами отклика составляющих ее блоков.

**БЛОК 2.** **Система мониторинга динамических характеристик биосферы. (Отв. исполнитель д.т.н. А.П.Шевырногов.)**

*1) Оценка вклада микроорганизмов с различными типами стратегии развития (R, K и L- стратегии) в процессы трансформации углерода в почвах при утилизации органических соединений с различным уровнем «окисленности» (опад, подстилка, гумус).*

# Согласно принципу наихудшего сценария в первую очередь нужно обращать внимание на процессы, которые могут способствовать катастрофическому развитию биосферной динамики. В рамках минимальной модели биосферы возможность катастрофического варианта динамики существенно зависит от того как повышение глобальной температуры повлияет на интенсивность и полноту выделения почвенного углерода в атмосферу. В процессах интенсификации дыхания важную роль может сыграть так называемое явление кометаболизма на физиологическом и популяционном уровнях. Суть его заключается в том, что при добавлении легко окисляемого субстрата микроорганизмы способны более активно потреблять ранее имевшийся трудно окисляемый субстрат. И тогда K – стратеги начинают работать со скоростью R – стратегов. Экспериментально показано, что такое явление – ускорение окисления лигнина - имеет место при добавлении целлюлозы в пищу микроорганизмам, окислявшим лигнин. При катастрофическом усыхании деревьев и высвобождении большого количества древесной целлюлозы, достигшей почвы, вполне возможно явление кометаболизма.

# Согласно проведенным по почвенным блокам (детрит, мобильная почва, устойчивая почва) оценкам кометаболизм (при активизации R,K,L – стратегов) способен увеличить суммарный выход углерода из почвы на 16%, что в итоге составит 1490 Гт(С). Поэтому вклад кометаболизма будет учитываться при построении инкапсулированных моделей почвы.

# ***2) Оценка локальной и глобальной чистой первичной продукции растительности суши.***

Моделирование биосферной динамики немыслимо без адекватной оценки глобальной чистой первичной продукции (ЧПП) растений. Непосредственное наземное измерение ЧПП по всему земному шару является невозможным. Единственным подходом позволяющим решить эту задачу, является использование спутниковых данных по NDVI для расчета первичной продукции. Однако между NDVI и ЧПП нет прямой связи, поэтому необходимо использовать специальные расчетные формулы, учитывающие также температуру, влажность и др. показатели. Правильность расчетных формул можно проверить двумя способами: сравнить прирост биомассы полученный в результате полевых измерений на контрольных участках со спутниковой оценкой ЧПП того же участка. Применимость полученной формулы в глобальном масштабе можно проверить, посчитав глобальную ЧПП и сравнить ее с сезонной и многолетней динамиками концентрации углекислого газа в атмосфере. Для этого одновременно нужно знать глобальный вклад почвенного дыхания.

Существует множество расчетных моделей для получения чистой первичной продукции. Наиболее распространенной является модель GLO-PEM, основанная на использовании информации со сканера AVHRR. Они представляют собой 10-ти дневные глобальные снимки. Пространственное разрешение 8х8 км. Однако существуют данные о несоответствии оценок ЧПП, полученных с помощью этой модели с одной стороны и наземных наблюдений и глобальной динамикой СО2 – с другой. Это расхождение приводит к необходимости разработать собственный вариант модели GLO-PEM, позволяющий провести привязку спутниковых данных к наземным измерениям ЧПП, проведенными сотрудниками ИЛ СО РАН на пробных участках существенно меньшего размера, чем разрешение сканера AVHRR.

Разработанный вариант модели GLO-PEM, способный работать с малыми участками был опробован путем сравнения с данными по приросту биомассы на пробных участках, расположенных в Ермаковском районе Красноярского края. Результаты сравнения приведены на рис.18.



Рис.18. Сравнение спутниковых оценок ЧПП с наземными измерениями прироста биомассы.

Очевидно несоответствие наземных и модельных оценок ЧПП. Это подтверждает определенную неадекватность широко используемой модели GLO-PEM. Следующим этапом будет модификация расчетной модели и проверка ее на других пробных участках.

Определенная некорректность оценок вычислительной модели GLO-PEM не мешает использовать ее для сравнительных оценок многолетней динамики ЧПП. На рисунке 6 показана динамика сезонных значений ЧПП за период 1982-2000 гг.

В результате работы получены следующие результаты.

1. Рассчитан суммарный глобальный ЧПП за 20 лет, который показывает, что за этот период наблюдается положительный тренд роста глобального ЧПП, на 10%.
2. Рассчитаны средние значения ЧПП, по широтам, получены две широтные зоны максимальной продуктивности, от 330 до 550 с.ш. и от 110 с.ш. до 110.ю.ш. Сопоставление этих зон с глобальной картой типов растительности позволяет сказать, что основной вклад в производство продукции вносят луга, пахотные земли и смешанные и хвойные леса северных широт и вечнозеленые широколиственные леса тропиков.



А)

Б)

Рис.19. Диаграмма сезонных значений ЧПП (А) и средних значений по широтам (Б).

**БЛОК 3. Экспериментально-теоретические исследования особенностей круговорота веществ на базе миниэкосистем (Отв. исполнитель д.б.н. Тихомиров А.А., д.ф.-м.н. В.Г.Губанов).**

Для оценки глобальной применимости учитываемых в модели механизмов обратных связей в биосфере необходимо исследовать типичность закономерностей отклика моделируемой системы на повышение температуры. Для этой цели могут быть использованы экспериментальные модели биосферы.

В Институте биофизики СО РАН в 2006 – 2007гг была создана и длительно функционировала в режиме самоподдержания состава фототрофного и гетеротрофных звеньев экспериментальная установка миниэкосистема (МЭС) закрытого типа с полным замыканием по массообмену. В начале 2008 г было выполнено техническое переоборудование системы с целью улучшения стабильности поддержания температурно-влажностного режима, и МЭС была вновь загерметизирована. На протяжении последних 9 месяцев в МЭС установился режим самоподдержания и смены поколений фототрофного звена (рис.20), во время которого наблюдалась колебательная динамика концентрации углекислого газа в системе от 0,02% в фазе преобладания в ценозе активно вегетирующих растений, до 0,1% в период массового отмирания отживших растений. Концентрация кислорода колебалась в пределах от 18,7 до 19,8%.



Рис. 20. Динамика концентрации углекислого газа и кислорода в миниэкосистеме в течение трех циклов смены поколений звездчатки средней (*Stellaria Media L.*).

Незначительная концентрация метана в атмосфере МЭС находилась на уровне погрешности измерений. В экспериментах 2008 года удалось добиться, как видно из иллюстраций (рис.21), небольшой рассинхронизации смены поколений растительного звена МЭС в различных участках камеры. Благодаря этому уменьшилась как общая длительность циклов, так и амплитуда колебаний газового состава воздушной среды МЭС. Этот факт не только дает системе больший запас устойчивости к возмущающим факторам, но и приближает данную модель к реальным свойствам биосферы Земли.

В настоящее время система готова к проведению экспериментов по оценке отклика системы на повышение температуры среды.





Рис. 21. Общий вид растительного ценоза в системе с растениями звездчатки средней (*Stellaria Media L.*) на различных этапах развития.

**проект 6.10.1.5. Контролируемый синтез резорбируемых полиэфиров и разработка научных основ их применения в качестве матриксов функционирующих клеток и депонирования лекарственных средств. Рег. номер 01.200703092**

Блок 1. Синтез новых типов многокомпонентных разрушаемых полигидроксиалканоатов (ПГА) и исследование физико-химических свойств (кристалличности, температурных характеристик, молекулярной массы).

На предыдущем этапе разработаны и реализованы режимы биосинтеза, позволившие синтезировать спектр многокомпонентных ПГА, в том числе новой химической структуры. С применением оптимизированных режимов экстракции и очистки получено семейство высокоочищенных образцов 2-х компонентных сополимеров новых типов и начато исследование физико-химических свойств. Варьирование состава углеродного субстрата и использование в качестве ко-субстрата γ-гидроксимасляной кислоты позволило синтезировать серию сополимеров *β*-гидроксибутирата/γ-гидроксибутирата с различным соотношением мономеров. Начато изучение физико-химических свойств синтезированных сополимеров; установлено, что с увеличением включения в сополимере доли γ-гидроксибутирата происходит снижение степени кристалличности полимера (Сх), при этом молекулярная масса материала не изменяется.

Таблица 2

Химическая структура и свойства опытных образцов сополимеров β-гидроксибутирата/γ-гидроксибутирата с различным соотношением мономеров

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Образец | Состав сополимера | | Сх,% | Мв |
| 1 | *β*-*гидроксибутират* | γ-гидроксибутират |  |  |
| 2 | 96,2 | 3,8 | 72,0 | 280 000 |
| 3 | 84,0 | 16,0 | 68,3 | 320 000 |
| 4 | 79,4 | 20,6 | 66,0 | 300 000 |
| 5 | 60,8 | 39,2 | 58,4 | 275 000 |

**Блок 2. Конструирование и исследование структуры и физико-химических свойств панели гибридных материалов и конструкций из ПГА и кальций-фосфатов для репаративного остеогенеза**

Для репаратвиного остеогенеза механо-физическим методом получена серия образцов гибридного композита из биоразрушаемых линейных полиэфиров (полигидроксибутирата, ПГБ и сополимеров гидроксибутирата с гидроксивалератом, ПГБ/ПГВ) и волластонита. Исследованы свойства композита в зависимости от соотношения в нем компонентов. Наполнение полимера волластонитом существенно влияет на свойства композита и свойства поверхности полученных 3-х мерных образцов. С увеличением доли волластонита в композитах свободная энергия межфазовой поверхности, сила сцепления, следовательно, прочность адгезионного шва между поверхностью композита и водной фазой, а также смачиваемость поверхности возрастают (таблица 3). Наполнение полимера волластонитом существенно влияет на температурные свойства (температуру плавления композита и температуру термической деградации), снижая оба параметра при сохранении термостабильности материала. Из композита получены микрочастицы методом испарения растворителя из эмульсии

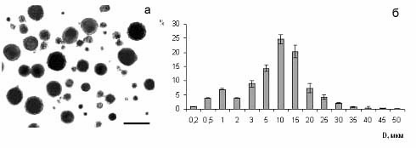


Рис. 22. Изображение композитных микрочастиц ПГБ/волластонит (а) и размерное распределение (б). Маркер - 20 мкм

Микрочастицы имели правильную округлую форму и были гетерогенны по диаметру. Размерное распределение микрочастиц варьирует от 0,2 до 50 мкм. Полученные композитные микрочастицы пригодны для дальнейших исследований в качестве матрикса для депонирования лекарственных препаратов.

Из охарактеризованных композитов ПГА/волластонит получены и исследованы объемные конструкции в виде объемных прессованных компактов - прототипы имплантатов для реконструктивного оcтеогенеза и депонирования лекарственных средств. В культуре остеобластов, выращиваемых *in vitro* на объемных матриксах из разработанного композита ПГА/волластонит не обнаружено отрицательного воздействия волластонита на клетки; биосовместимость композита по этому показателю аналогична ранее исследованным конструкциям из ПГА.

Таблица 3

Характеристика гибридных композитов ПГА/волластонит

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показ | Тип полимера и соотношения полимер/ волластонит в композите  (% массы): | | | | | | | | |
| ПГБ | | | ПГБ/ПГВ, 10 мол% | | | ПГБ/ПГВ, 27 мол% | | |
| 100/0 | 80/20 | 50/50 | 100/0 | 100/20 | 50/50 | 100/0 | 80/20 | 50/50 |
| Краевой угол смачивания (θ,град) | 72006I | 69021I | 48004I | 72006I | 68020I | 44004I | 72010I | 65008I | 46014I |
| Поверхностное натяжение (γ, эрг/см2) | 31,18 | 33,31 | 50,70 | 31,18 | 34,11 | 53,78 | 32,01 | 36,70 | 52,04 |
| Свободная энер-гия межфазовой поверхности (*γ*SL, эрг/см2) | 8,70 | 7,62 | 1,99 | 8,70 | 7,25 | 1,44 | 8,68 | 6,12 | 1,74 |
| Величина сил сцепления, (*W*SL, эрг/см2). | 95,29 | 98,50 | 121,50 | 95,29 | 99,66 | 125,14 | 95,09 | 103,38 | 123,10 |
| Влагопоглощение, % | 2,80 | 7,80 | 18,28 | 2,85 | 9,05 | 16,80 | 2,80 | 8,02 | 17,90 |
| Плотность, г/см3 | 1,02 | 1,06 | 1,18 | 1,01 | 1,05 | 1,11 | 1,04 | 1,05 | 1,19 |
| Температура плавления, оС | 170 | 165 | 161 | 166 | 163 | 160 | 162 | 161 | 157 |
| Температура термической деградации, оС | 278 | 225 | 218 | 276 | 225 | 214 | 262 | 212 | 212 |

**Блок 3. Использования ПГА для конструирования пролонгированных форм лекарственных препаратов с контролируемым выходом, пригодных для внутримышечного и внутривенного введения**

Продолжены исследования, ориентированные на разработку долговременных лекарственных средств. Наиболее перспективными считаются лекарcтвенные системы на основе биодеградируемых микросфер и микрокапсул, которые могут быть введены подкожно или внутримышечно, адаптированы для орального применения или ингаляций, а также введены в кровоток. Материалы, необходимые для конструирования таких систем предназначенных для внутривенного введения, помимо биосовместимости, должны обладать гемосовметисмостью, то есть не должны вызывать тромбозов, тромбоэмболий и антигенного ответа, деструкции форменных элементов крови и белков плазмы.



Стерильную суспензию микросфер (5 мг в 0,5 мл физиологического раствора, имеющих диаметр от 0,5 до 4,0 мкм, которые были получены методом испарения растворителя из 3-х компонентной эмульсии ПГА, меченного по 14С, вводили в хвостовую вену экспериментальным животным. Спустя 3 часа после введения микрочастиц, через сутки и далее еженедельно по пять животных выводили из эксперимента передозировкой ингаляционного наркоза, выделяли внутренние органы, которые макроскопировали и взвешивали, подвергали счету радиоактивности (сцинтилляционный счетчик «TRI-CARB 2100TR». Packard BioScience Company, US). Все животные после внутривенного введения микрочастиц и далее в течение всего эксперимента были здоровы и активно поедали корм. Различий в массе животных и массах внутренних органов контрольной и экспериментальной групп не отмечено. Макроскопические исследования внутренних органов животных на всех сроках наблюдения каких-либо отклонений не выявили. Гистологическими исследованиями срезов тканей внутренних органов не выявлено негативных изменений. Динамика удельной радиоактивности тканей внутренних органов в ходе эксперимента представлена на рис.1.

Рис.23. Динамика удельной радиоактивности тканей внутренних органов при введении 14С полимерных микрочастиц в кровоток

Спустя 3 ч после введения микрочастиц в кровоток животным максимальная величина удельной радиоактивности 14С (13680±117 имп/мин·г) зарегистрирована в тканях сердца. Следующими по величине метки были ткани почек (6520±81 имп/мин·г), далее - ткани легких (4280±65). Радиоактивность тканей печени и селезенки были сопоставимыми и на уровне (3400±58 имп/мин·г). Самый низкий уровень радиоактивности зафиксирован в крови (1820±43 имп/мин·г) и костном мозге (580±75). Через сутки картина резко изменилась: радиоактивность тканей сердца резко снизилась (в 2 раза), а в тканей печени – резко возросла (практически в 5,5 раз). Радиоактивность тканей селезенки возросла в 1,8 раза, то есть практически сравнялась с величиной метки в сердце на этом сроке. Через 1 неделю также отмечено увеличение содержания метки в тканях печени на фоне падения содержания 14С в сердце и легких. Через месяц уровень удельной радиоактивности тканей сердца упал от исходного практически в 4 раза и составил 3240±57 имп/мин·г. Радиоактивность тканей печени на этом сроке также упала (до 15120±90 имп/мин·г). При этом зафиксировано некоторое возрастание метки в тканях селезенки, что, возможно, связано с аккумуляцией продуктов резорбции полимера в ней, т.к. в этом органе, помимо гидролитических ферментов, активно функционируют клетки макрофагального типа, резорбирующих клеточные элементы.



Рис.24. Динамика суммарного накопления 14С в органах животных

Показано, что ткани внутренних органов по разному проявляли кумулятивную активность в отношение сорбции полимерных микрочастицам, введенных в кровоток животным. Данные рисунка 2, на котором показана в динамике суммарная радиоактивность, показывают, что начиная с 28 суток эксперимента и далее происходит достоверное снижение суммарной радиоактивности органов.

Это является свидетельством биоразрушения полимерного матрикса частиц *in vivo*. В первой анализируемой точке эксперимента (через 3 ч после введения микрочастиц животным) суммарная радиоактивность органов составила 38720 ± 2575 имп/мин, то есть 80% от радиоактивности введенной дозы. В начальный период наблюдения по мере циркулирования микрочастиц в организме с током крови суммарное включение метки в ткани органов несколько возрастало. Через сутки и неделю после введения эта величина возросла до 43700 ± 2778имп/мин, что близко к введенной дозе. Через 4 недели отмечено достоверное снижение радиоактивности органов, что, по нашему мнению, связано с начавшимся процессом биоразрушения полимерного матрикса и выведением части метки из организма с углеродсодержащими продуктами. Так, через 60 и 120 суток от момента введения частиц в кровоток суммарная радиоактивность органов упала, соответственно, до 30 000± 2056 и 28210± 2054 имп/мин. Хроматографический анализ содержания полимерной субстанции в виде метиловых эфиров гидроксимасляной кислоты (мономера полигидроксибутирата) в тканях органов показал различия интенсивности процесса деградации полимерного матрикса микрочастиц в тканях органов животных (таблица 4), а также о том, что к концу эксперимента в органах присутствовала полимерная субстанция, что может свидетельствовать о целостности части микрочастиц.

Таблица 4

Результаты хроматографического анализа содержания метиловых эфиров мономеров гидроксибутирата в тканях органов крыс

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| орган | Содержание ПГБ (1 × 10-4 мг/орган) | | |
| 1 неделя | 8 недель | 12 недель |
| сердце | 1527 | 132 | 75 |
| легкие | 1694 | 111 | 56 |
| печень | 5861 | 4889 | 197 |
| селезенка | 606 | 251 | 14 |
| почки | 189 | 124 | 43 |

Для выявления наличия в тканях органов высокомолекулярного (не разрушенного) полимера, произведена обработка тканей растворителем с целью экстракции из них высокомолекулярного полимера. Выделенный из тканей органов животных полимер после тщательной очистки и высушивания также был подвергнут метанолизу и хроматографированию с целью идентификации соединения. Это позволило определить концентрацию в органах собственно высокомолекулярного, не разрушенного полимера на разных сроках наблюдения (таблица 5).

Наибольшее содержание полимера через неделю после введения микрочастиц зарегистрировано в легких, сердце и печени относительно его концентрации в тканях селезенки и почек. Однако резкое падение этой величины на сроке 8 недель, обнаруженное для легких и сердца, аналогично данным таблицы 4, свидетельствует в пользу вывода о вымывании частиц, нежели протекании процессов деградации в этом органе. Этот вывод подтверждают данные измерения радиоактивности тканей.

Таблица 5

Остаточное содержание высокомолекулярного полимера в тканях органов крыс

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| орган | Содержание ПГБ (1 × 10-4 мг/орган) | | |
| 1 неделя | 8 недель | 12 недель |
| сердце | 420 | 30 | 5 |
| легкие | 600 | 5 | 6 |
| печень | 360 | 110 | 80 |
| селезенка | 6 | 10 | 5 |
| почки | 16 | 20 | 7 |

«-» - означает «не определено».

Обращает на себя внимание обнаруженный факт существенного различия данных таблиц 1 и 2 на сроке 12 недель после введения микрочастиц, - зарегистрировано существенно более высокие значения содержания полимерной субстанции по результатам хроматографии тканей органов (таблица 1) по сравнению с количеством выделенного из органов высокомолекулярного полимера (таблица 2). Это позволяет заключить, что к концу эксперимента основная доля радиоактивного полимера присутствует *in vivo* в виде мономеров гидроксимасляной кислоты и низкомолекулярных продуктов ее распада. Второй важный вывод из анализа данных таблицы 2, свидетельствует о наличие в органах животных на различных сроках наблюдения части целостных полимерных микрочастиц. И, наконец, обнаруженное относительно невысокое содержание полимера в органах, в особенности, в печени и селезенке, на фоне зарегистрированной высокой радиоактивности тканей, говорит о высокой интенсивности разрушения полимерного матрикса в них.

В целом, выполненные исследования показали возможность использования разработанных полимерных микрочастиц из полигидроксибутирата для внутривенного ведения; выявили, что ткани внутренних органов по-разному проявляют кумулятивную активность в отношение сорбции полимерных микрочастицам, введенных в кровоток животным, а деградация полимерного матрикса в них происходит с различной интенсивностью. Зарегистрированное наличие высокомолекулярного полимерного матрикса в органах, свидетельствующее о целостности микрочастиц, позволяет сделать вывод о состоятельности полигидроксибутирата для долговременной (до 12 недель) доставки лекарственных препаратов в ткани внутренних органов через внутривенное введение.

**Проект 6.12.1.3. Экспериментальное и теоретическое моделирование процессов трансформации и перераспределения углеродных соединений в биосистеме с круговоротом вещества, включающей растения и почвоподобный субстрат. Рег. № 01.200703089. Научные руководители проекта: академик РАН И.И. Гительзон, член-корр. РАН, д.ф.-м.н. А.Г. Дегерменджи**

**Блок 1. Экспериментальное определение распределения углерода по звеньям экспериментальной биосистемы в течение вегетационного периода растений в зависимости от 1) начального соотношения углеродных соединений и зольных элементов в почвоподобном субстрате; 2) поступления («накачки») в микрокосм углеродных соединений разной степени восстановленности (метана, целлюлозы и углекислого газа и др.).**

На современном этапе поступление в природные экосистемы избыточного количества углерода в результате сжигания органического сырья все более заметны тенденции изменения глобального климата. В этой связи отмечается (Heimann M., Reichstein M. Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks // *Nature*. 2008. V. 451. P. 289–292) что, хотя общие закономерности трансформации соединений углерода в экосистемах в основном понятны, детали протекания отдельных процессов, их количественная характеристика и то, как на них влияют внешние условия остаются мало изученными. Особенно плохо известно, что происходит в почве. Соответственно изучение механизмов депонирования и перераспределения углерода при его “избыточном” поступлении в экосистемы остается актуальным. В частности, полезными могут оказаться результаты длительных многофакторных экспериментов c искусственными микроэкосистемами, прежде всего с оценкой потоков углерода

В Институте биофизики СО РАН для изучения процессов депонирования избыточного углерода в почвоподобном субстрате при поступлении (накачке) в систему углеродных соединений разной степени восстановленности (метана, целлюлозы, углекислого газа) были разработаны и испытаны малообъемные экспериментальные модели экосистем – микрокосмы, включающие высшие растения и почвоподобный субстрат (ППС). Работа была проведена в 2 этапа.

1. *Распределение углерода по звеньям экспериментальной биосистемы по окончании вегетационного периода растений в зависимости от начального соотношения углеродных соединений и зольных элементов в ППС*

Определение влияния содержания золы в ППС на рост растений пшеницы проводили в экспериментальной системе при свободном газообмене с внешней атмосферой (без замыкания по газу). В опытах использовали пшеницу Triticum aestivum сорт 232 селекции Г.М.Лисовского. Начальная сухая масса ППС в микросистеме составляла 184,8 г во всех опытах, посевная площадь 0,009 м2, толщина слоя ППС в начале экспериментов 0,13 м. Полив растений осуществляли путем подтопления 1 раз в сутки для поддержания влажности ППС на уровне 73-80 %. Для полива использовали дистиллированную воду. Интенсивность освещения составляла около 150 Ватт/ м2 ФАР. Режим освещения - непрерывный, температура воздуха 24 ± 2°С при влажности воздуха около 60%. Для проведения экспериментов использовали образцы ППС с содержанием золы 24,4; 31,2; 40,8 и 48,1 %. Общий сухой вес урожая наземной биомассы соответственно составил 2,011; 1,926; 1,813 и 1,756 кг в пересчете на 1 кв. метр при длительности вегетационного периода 69 суток. Результаты расчета перераспределения углерода между биомассой растений, ППС и поливной водой по окончании эксперимента представлены в таблице 6.

Таблица 6.

Распределение углерода в звеньях микросистемы в зависимости от начального содержания зольных элементов в ППС

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исходная зольность образцов  ППС,  % | Общая начальная масса углерода в микросистеме, граммы | Общая конечная масса углерода в микросистеме, граммы | Распределение массы углерода по звеньям микросистемы по окончании вегетации, % | | |
| ППС | Фитомасса | Поливная вода |
| 48,1 | 48,1 | 49,4 | 92,3 | 7,5 | 0,2 |
| 40,8 | 54,8 | 55,8 | 93,2 | 6,6 | 0.2 |
| 31,06 | 64,1 | 64,3 | 93,6 | 6,2 | 0,2 |
| 24,4 | 70,1 | 69,2 | 93,7 | 6,0 | 0,3 |

2. *Распределение углерода по звеньям замкнутой биосистемы в течение вегетационного периода растений при поступлении («накачке») в микросистему углеродных соединений разной степени восстановленности (метана, целлюлозы и углекислого газа)*

Определение распределения углерода по звеньям при накачке в микросистему углеродных соединений разной степени восстановленности проводили в условиях замкнутого газообмена. При накачке системы углеродом в составе углекислого газа и целлюлозы было проведено по два цикла вегетации, в составе метана- один цикл. По окончании каждой вегетации систему открывали, взвешивали фитомассу, определяли содержание органического вещества в поливной воде. Производили посев зерен пшеницы и систему вновь герметизировали. Условия проведения экспериментов: режим освещения, температура, влажность воздуха и субстрата поддерживали в тех же пределах, что и в предыдущем эксперименте. Начальная сухая масса ППС в микросистеме в первом цикле вегетации составляла 184,8 г. Для полива растений использовали 0,8 литра дистиллированной воды. Накачку микросистемы углекислым газом осуществляли периодически с помощью шприца ежесуточно начиная с 31-35 суток после того, как концентрация СО2 снижалась до уровня 0,1-0,4 %.

В среднем каждые сутки (в течение последних 35 суток) вводили в систему по 50-120 мл СО2. Всего за вегетацию ввели 2 г СО2 в пересчете на углерод. Накачку микросистемы метаном осуществляли периодически с помощью шприца 1 раз в сутки в первые 5 суток и последние 30 суток вегетации растений. Метан подавали из расчета 2 литра за вегетацию (1 г по углероду). Углерод в атмосфере микросистемы представлен как сумма масс углерода углекислого газа и метана. Внесение целлюлозы в микросистему из расчета по 5 г (2 г по углероду) осуществляли однократно вначале каждого цикла вегетации. Результаты распределения масс углерода по звеньям микросистемы при внесении в систему СО2, целлюлозы и метана приведены в таблице 7.

Таблица 7.

Распределение масс углерода по звеньям микросистемы при подаче в атмосферу системы в виде СО2, целлюлозы (С6Н10O5)n и метана CH4.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Подача углерода в систему в виде | Цикл вегетации | Начальная масса углерода в системе, г | Конечная масса углерода в системе, г | Распределение массы углерода по звеньям микросистемы по окончании вегетации, % | | | |
| ППС | Фитомасса | Поливная вода | Атмосфера |
| СО2 | 1 | 72,5 | 74,5 | 89,0 | 10,9 | 0,13 | 0,0039 |
| СО2 | 2 | 74,5 | 76,5 | 89,0 | 10,9 | 0,15 | 0,0035 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| (С6Н10O5)n | 1 | 72,5 | 74,5 | 89,7 | 10,2 | 0,12 | 0,0082 |
| (С6Н10O5)n | 2 | 74,5 | 76,5 | 89,5 | 10,3 | 0,13 | 0,0077 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| CH4 | 1 | 74,5 | 75,5 | 89,4 | 10,5 | 0,16 | 0,0047 |

Основные выводы

1. Установлено, что между содержанием золы в почвоподобном субстрате и урожаем пшеницы существует отрицательная корреляция. При увеличении зольности ППС в диапазоне от 24,4 % до 48,1 % урожай общей фитомассы пшеницы монотонно снижался с 2,011кг до 1,756 кг в пересчете на 1 кв. метр. Одновременно доля углерода, депонированного в ППС, возрастала с 92,3 до 93,7 % и, соответственно, доля углерода в фитомассе снижалась с 7,5 до 6 %.
2. В отсутствии лимитирования по освещенности, воде и минеральному питанию накачка органических соединений разной степени восстановленности в замкнутую двухзвенную биосистему “Высшие растения - ППС“ приводит к депонированию углерода в звеньях системы пропорционально массе углерода содержащегося в составе этих звеньев

**Блок 2. Оценка потенциальной фотосинтетической продуктивности растений с различным типом углеродного метаболизма (С3 – С4 – растения) при культивировании на почвоподобном субстрате**

Ограниченные масштабы БСЖО требуют поиска способа увеличения продуктивности растений, используемых в фототрофном звене. В настоящее время известно, что увеличение интенсивности ФАР приводит к существенному повышению, как урожая растений, так и их продуктивности при выращивании в контролируемых условиях методом гидропоники на не лимитированных по минеральному питанию стандартных средах. Однако для почвоподобного субстрата (ППС) такие исследования не выполнялись. В связи с этим, была проведена сравнительная оценка влияния повышенной интенсивности ФАР на продуктивность растений пшеницы и редиса (растения С3 типа) и растений чуфы (растения С4 типа), выращенных на свежеприготовленном ППС.

Рис. 25. Урожай растений, выращенных на ППС при различной интенсивности ФАР

Показано, что повышение облученности ФАР для растений чуфы от 150 до 250 Вт/м2 ФАР увеличило урожай съедобной и несъедобной биомассы на 20%, а общая биомасса и урожай зерна пшеницы недостоверно не изменились. Для растений редиса аналогичные изменения интенсивности ФАР привели к увеличению общей и съедобной биомассы на 30% и 45% соответственно. Полученные результаты связаны с тем, что на стадии интенсивного роста и развития растений чуфы и пшеницы, при выращивании их на ППС при 250 Вт/м2, лимитирующим фактором стала концентрация минеральных элементов в субстрате, так как скорость превращения связанных форм минеральных элементов в доступные для растений формы не удовлетворяла потребностям растений. В отличие от пшеницы и чуфы, пройденные редисом этапы вегетации не были связаны с высокими темпами ростовых процессов и не потребовали интенсивного запроса ассимилятов, поэтому лимит по минеральным элементам в ППС для них проявился в меньшей степени. Таким образом, при выбранных условиях культивирования на ППС зависимость фотосинтетической продуктивности растений разных видов от светового фактора имеет общие причины, связанные со стратегией роста и развития, с одной стороны, и с темпами роста, с другой, и не зависит от С3-, или С4- типа углеродного питания.

## 1.3. Результаты НИР по проектам с целевым финансированием РАН и Сибирского отделения РАН

Проекты РАН и СО РАН в рамках программ фундаменальных исследований Президиума и отделений РАН (Постановление Президиума СО РАН № 79 от 06.03.2003)

*Программа Президиума РАН и СО РАН «Молекулярная и клеточная биология»*

*Грант «Молекулярные механизмы образования эмиттера в биолюминесцентных реакциях различных организмов».*

1. На основе анализа анизотропии флуоресценции ксантеновых и антраценовых красителей в присутствии апо-обелина, исследовано связывание этих красителей с ферментом. Показано, что эффективность связывание определяется массой галоида в структуре красителя и гидрофобными характеристиками красителя.

2. Разработаны 4 прототипа экспериментальных моделей (ЭМсахароза, ЭМглицерин, ЭМкрахмал, ЭМжелатин), в которых реконструирована цепь сопряжения двух ферментов светящихся бактерий (люциферазы и НАДН:ФМН-оксидоредуктазы) в растворах повышенной вязкости (сахарозы и глицерина), а также в матричной структуре крахмального или желатинового гелей. Модели проявляет биолюминесцентную активность и имитируют вязкое микроокружение ферментов в матриксе. Сравнительный анализ характеристик растворимой и иммобилизованной биферментной системы в прототипах экспериментальных моделей показал преимущества ЭМсахароза и ЭМкрахмал перед ЭМжелатин и ЭМглицерин и определил пути их усовершенствования.

3. С разрешением 1.8 Å определена кристаллическая структура Са2+-зависимого целентеразин-связывающего белка (CBP) в апоформе, связанной с ионами кальция. Показано, что пространственная структура CBP в апоформе имеет компактную двухдоменную архитектур, аналогичную CBP, связанному с целентеразином. Ионы кальция располагаются в каждом из канонических Са2+-связывающих сайтов («EF-hand» петли I, III и IV). Среднеквадратичное отклонение атомов основной цепи CBP в двух состояниях составляет 3.91 Å. В субстрат-связывающей полости CBP после связывания кальция выявлены изменения в положении аминокислотных остатков, способствующие освобождению целентеразина из субстрат-связывающей полости. Установлено, что помимо конформационных изменений аминокислот, участвующих в связывании целентеразина, уменьшается объем и форма субстрат-связывающей полости: *С*-концевая часть полости «схлопывается», в то время как *N*-концевая часть слегка раскрывается, а α-спирали С, D и E расходятся, образуя открытое для растворителя «отверстие». Компьютерное моделирование белок-белкового взаимодействия CBP с люциферазой *Renilla* показывает, что поверхности двух белковых молекул контактируют в районе «отверстия», из которого, предположительно, высвобождается целентеразин, и активного центра люциферазы.

*Программа Президиума РАН «Фундаментальные науки-медицине».*

*Проект 11.1 «Разработка и внедрение в медицину нового класса биоразрушаемых биоматериалов (полигидроксиалканоатов) для создания контролируемых систем доставки и депонирования лекарственных средств длительного действия и хирургических имплантатов»*

Синтезированы образцы ПГА в необходимых количествах, позволившие получить серию экспериментальных изделий медицинского назначения и провести их исследования. С применением резорбируемого полимера гидроксимасляной кислоты, меченого по 14С, получены микрочастицы, которые были введены лабораторным животным в хвостовую вену без негативных последствий для роста и развития животных, а также макро- и микроскопической структуры тканей органов. Впервые изучено распределение микрочастиц среди внутренних органов и динамика накопления углеродсодержащих продуктов разрушения полимера во внутренних органах. Показано, что основной мишенью для частиц являются ткани печени, а также почек и селезенки. Наиболее активнее разрушение полимерного матрикса микрочастиц происходит в селезенке и печени. Выявленное наличие высокомолекулярного полимерного матрикса в органах, свидетельствующее о целостности микрочастиц, позволяет сделать вывод о состоятельности полигидроксибутирата для долговременной (до 12 недель) доставки лекарственных препаратов в ткани внутренних органов через внутривенное введение. Исследована возможность использования в хирургии моножильных нитей, изготовленных экструзией из расплава полимера 3-гидроксимасляной кислоты (полигидроксибутирата, ПГБ). Доказана пригодность нитей из ПГБ для наложения однорядного межкишечного анастомоза и кишечных швов. Осложнений в виде ранней или поздней несостоятельности, анастомозитов, кишечной непроходимости, спайкообразования в брюшной полости зафиксировано не зафиксировано. Изготовлены пленочные эндопротезы из ПГА, в т.ч. нагруженные противоспалительными нестероидными препаратами и исследована их применимость в качестве барьерных средств при имплантации внутрибрюшинно для предотвращения спаечного процесса. Получены положительные результаты, позволяющие перенести исследования в условия клиники. Начаты ограниченные исследования полимерных изделий из ПГА в клинических условиях.

*Программа Президиума РАН «Эволюция и просихождение биосферы».*

*Проект «Малоразмерные» теоретические и экспериментальные модели организации и эволюции круговорота биогенных элементов в биосфере»*

1. Установление направлений коэволюции сообществ, описываемых моделями адаптивного метаболизма при наличии ограничений на существенные переменные системы, обусловленных высокой замкнутостью потоков веществ.

2. Исследование роли и вклада двух механизмов синтеза восстановленных соединений (хемосинтез и фотосинтез) в формировании вертикальной структуры водной экосистемы на примере озера Шира.

В результате работы показано, что:

1. Коэволюционный процесс, приводящий к устойчивому сосуществованию видов в экосистеме при отсутствии внешних ограничений на величины параметров приспособленности может реализовываться при учете ресурсоемкости приспособительных функций и ограниченности ресурсов организма даже в моделях с "жестким" метаболизмом, что указывает на робастность полученного результата.

2. Стандартные формулы статистической обработки данных, полученных в экспериментах с высокозамкнутыми экологическими системами, не корректны. Выведена формула для корректной статистической обработки данных, полученных на экосистемах с высоким уровнем замыкания по выделенному биогенному элементу, и формула для оценки степени замкнутости экосистемы на основе оценок ее статистических показателей.

3. Оксигенная зона, в которой протекают процессы фотосинтеза, выступает важным поставщиком органического вещества необходимого для функционирования бактериальных сообществ аноксигенной зоны. Роль хемосинтетического сообщества пурпурных бактерий заключается в создании барьера, препятствующего проникновению сероводорода из глубин в приповерхностные воды. Положение зоны хемоклина в толще воды – места соприкосновения двух схем синтеза органики слабо реагирует на значительное изменение (увеличение или уменьшение) потоков вещества со дна или из атмосферы.

Интеграционные проекты СО РАН (Постановления Президиума СО РАН № 55-54 от 09.02.2006)

Междисциплинарный интеграционный проект № 30. Сравнительный анализ закономерностей миграции техногенных радионуклидов в крупных водных экосистемах Сибири, Урала и Украины на примере реки Енисей, Обь-Иртышской речной системы и водоемов Чернобыльской зоны отчуждения

За отчетный период 2008 года в соответствии с задачами проекта проводился сравнительный анализ запасов и миграционной способности радионуклидов рек Енисей, Теча, а также водоемов Чернобыльской зоны отчуждения. Расчеты, проведенные в Институте биофизики СО РАН (Красноярск) и в Институте геологии и минералогии СО РАН (Новосибирск), показали, что запасы основного техногенного радионуклида 137Cs в пойменных почвах реки Енисей по разным оценкам оказались близки от 75 до 81 Кюри. Основные запасы 137Cs сосредоточены на островах в ближней зоне ГХК. Учет запасов радионуклидов в галечниках, а также учет запасов изотопов плутония приводит к оценке суммарных запасов радионуклидов на пойменных участках реки Енисей равной 131 Кюри. Согласно расчетам, проведенным сотрудниками Института экологии растений и животных УрО РАН (Екатеринбург), запасы основных техногенных радионуклидов в пойме реки Течи составили 5334 Кюри. При этом запасы 137Cs в Тече превышают таковые в реке Енисей в 48 раз, а запасы 90Sr - в 1800 раз. Однако запасы изотопов плутония в реке Енисей не меньше, а даже больше таковых в реке Теча в 3.6 раза. Этот факт требует проведения специальных исследований по содержанию актиноидов в донных отложениях реки Теча. Для одного из водоемов Чернобыльской зоны суммарные запасы радионуклидов в донных отложениях составляют около 40 Кюри, и при этом запасы миграционного 90Sr соизмеримы с запасами 137Cs, что близко к ситуации в пойме реки Теча. Запасы трансурановых элементов в донных отложениях Чернобыльского водоема составляют 26 ГБк и превышают таковые для реки Теча, но меньше чем для реки Енисей.

Не смотря на то, что гранулометрический и минералогический состав исследуемых проб донных отложений р.Теча и р.Енисей заметно отличается, во всех пробах донных отложений большая часть 137Cs (87-93% от общего содержания) находится в немигрирующей форме по данным химического фракционирования. Это объясняется известным механизмом связывания 137Cs - изоморфного включения в кристаллические структуры силикатных пород грунта. Однако в пробе донных отложений оз. Глубокое Чернобыльской зоны доля 137Cs в немигрирующей форме ниже - около 53 %. Для 90Sr - большая часть радионуклида, до 98% от общего содержания в пробах донных отложений реки Теча и водоема Чернобыльской зоны, находится в мигрирующих формах; для донных отложений р.Енисей только 60 % 90Sr находится в мигрирующих формах. Изотопы 239,240Pu преимущественно находятся в неразложившемся остатке (от 75 до 84 %) как донных отложений реки Теча, так и Енисей. Полученные данные по миграционным формам 241Am донных отложений реки Енисей более соответствуют данным по 90Sr, чем - по 239,240Pu. Фракционирование проб почв поймы реки Енисей в лабораториях Красноярска и Новосибирска показало, что для большинства исследованных участков доля миграционных форм основных радионуклидов (60Co,137Cs, изотопы Eu, 241Am) хорошо коррелирует с данными, полученными для донных отложений. Однако для участков поймы, расположенной ближе к месту сброса ГХК, доля миграционных форм основных радионуклидов значительно выше и может быть сопоставима с данными для реки Теча и водоема Чернобыльской зоны. Это можно объяснить свежими поступлениями радионуклидов с ГХК. В результате были получены последовательности миграционной способности радионуклидов в пробах пойменной почвы и донных отложений рек. Почва поймы реки Енисей на удалении от сбросов: 241Am ≥ 152Eu > 239,240Pu > 60Co > 137Cs; почва поймы вблизи сбросов: 152Eu ≥ 60Co ≥ 239,240Pu ≥ 137Cs; донные отложения р.Енисей: 90Sr > 241Am ≥ 152Eu > 60Co > 239,240Pu > 137Cs. Для донных отложений р.Теча и оз.Глубокое - 90Sr >> 239/240Pu > 137Cs.

*Комплексный интеграционный проект № 5.17. Исследование динамики экосистем криолитозоны в естественном (фоновом) состоянии и условиях длительного воздействия крупных промышленных предприятий.*

В отчете представлена большая часть итогового анализа данных полевых исследований больших и малых озер Заполярья Красноярского края, проведенных в июле-августе 2001, 2003 и 2004 гг. Обследованные озера располагаются в 12 ключевых участках, находящихся на разных расстояниях и в разных направлениях от Норильского промышленного комплекса (НПК) и поэтому подвергающихся воздействию его воздушных выбросов разной степени вплоть до близкой к нулевой. Ключевые участки расположены на территории, простирающейся с севера на юг с 69.5° до 67.5° с.ш. и с запада на восток от ~87 до 92° в.д.

Проведена многомерная статистическая классификация по валовым концентрациям металлов (K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Co, Cr, Ni и Pb) в воде и гидробиологическое районирование (по фито-, зоопланктону) исследуемых водоемов, анализ корреляционных графов концентраций металлов в воде мелких озер из фоновых участков, в воде глубоких озер из фоновых участков и в воде мелких озер из загрязняемых ("шлейфовых") участков. В результате выявлены металлы, поступающие в "шлейфовые" озера не из природных, а преимущественно из иных (антропогенных) источников: Ni, Mn, Co, Cu, а также Ca и Mg. Проведено сравнение концентраций металлов в воде озер фоновых и загрязняемых участков, расчет региональных ПДК. Концентрации Ni, Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Ca, Mg, и K в загрязняемых озерах были в несколько раз выше, чем таковые в воде озер фоновых участков, что является результатом антропогенного воздействия. Концентрации Pb, Cr и Na были выше в озерах фоновых участков. Сравнительный анализ концентраций металлов в воде и характеристик планктонной биоты в озерах различных участков с учетом данных по атмосферному загрязнению показал, что это может быть связано с особенностями распространения и выпадения из атмосферы этих элементов, а также геохимической спецификой региона. Влияние повышенных концентраций некоторых металлов на пелагические экосистемы "шлейфных" озер проявилось, вероятно, в стимуляции умеренного "цветения" цианобактерий *Anabaena* и *Microcystis*, впервые зарегистрированного в таких высоких широтах. Региональные ПДК рассчитали следующим образом: по совокупности данных по валовым концентрациям металлов в воде озер фоновых участков к максимальному значению валовой концентрации металла прибавили произведение ошибки репрезентативности средней концентрации на t-критерий Стьюдента (для выборки n=59 его значение при пороге вероятности 0.99 составляет 2.7). Очевидно, что если региональная ПДК оказывается ниже, чем общепринятая, то действует общепринятая ПДК, если региональная ПДК оказывается выше (как для Cu, Fe, Zn, и Cr), чем общепринятая, то следует применять рПДК.

По биологическим показателям планктона, с учетом гидрологических особенностей озер, обследованные водоемы 12 участков группируются следующим образом: сильно нарушенные водоемы (экосистемы) - участок Рыбная; слабо нарушенные или с тенденциями к нарушениям - Тукаланда, Хантайка, озеро из окрестности Норильска; условно фоновые и фоновые участки - Глубокое, Ирбэ, Кетаирбэ, Горбиачин, Черная, Лама, Кутарамакан, Эндэ. Деление на условно фоновые (первые три) и фоновые достаточно условно и отражает скорее "недоисследованность" участков Глубокое, Ирбэ, Лама, связанную с малым количеством обследованных озер, их однообразием в гидрологическом плане, отсутствием двухлетних отборов проб, а также относительную близость первых трех участков к источнику антропогенного влияния.

Наличие нарушений в биоте (главным образом признаков эвтрофирования по доминированию и цветению цианобактерий) на участках Рыбная, Тукаланда, Хантайка указывает на распространение воздушных выбросов НПК преимущественно в южном, юго-западном направлении, вернее поворотом шлейфа по мере удаления от Норильска с юго-восточного на южное и юго-западное направление, что подтверждается некоторыми спутниковыми фотографиями шлейфов, данными по преобладающим розам ветров на разной высоте, измерениям и моделям динамики концентраций и хим. состава аэрозоля и воздушных выбросов… . По средним концентрациям в воде серы, большая часть которой имеет антропогенное происхождение, порядок участков в ранжированном по убыванию ряду также подтверждает этот вывод. Причины возможного несовпадения районирования по водным экосистемам с таковым по наземным обсуждаются.

*Междисциплинарный интеграционный проект № 14. «Стволовые клетки – основа клеточных биотехнологий будущего»*

1. Получена серия образцов матриксов для выращивания клеток в виде пленок, мембран, губок, плотных и пористых объемных конструкций, микрочастиц и ультратонких волокон из резорбируемых полиэфиров (ПГА).

2. Изучены структура и физико-химические свойства матриксов. Отработаны химические и физические методы, позволяющие повысить гидрофильность поверхности и адгезионные свойства матриксов.

3. Исследованы биосовместимые и функциональные свойства в культурах клеток разного происхождения и в экспериментах на лабораторных животных. Полученные результаты, выполненные в клеточных культурах *in vitro* и *in vivo,* свидетельствуют об отсутствии токсического эффекта со стороны полимера при прямом контакте с клетками и тканями, сконструированные матриксы обладают хорошими адгезионными свойствами и способствуют пролиферации клеток гемопоэтического и остеогенного ряда.

4. В тесте эктопического костеобразования получено доказательство поддерживающей функции гибридных композитов ПГБ/ГAП и развитие на их поверхности и в пористой структуре остеобластических клеток, полученных из МСК костного мозга.

5. В Роспатенте зарегистрирована марка биоматериала и изделий - «БИОПЛАСТАТАН»

*Междисциплинарный интеграционный проект № 24. «Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения»*

Независимыми от культивирования методами выявлено четкое пространственное разделение доминирующих форм бактерий по вертикали вдоль градиента редокс-потенциала, а также качественное изменение видового состава хемоклина оз. Шунет на протяжении исследованного периода времени – с мая по сентябрь. Разработан метод мониторинга биомассы пурпурных серных бактерий в природных водоемах по флуореcцентному сигналу, и показана применимость данного метода на примере оз. Шира.

Разработана новая математическая модель для популяции цианобактерии *Anabaena flos-aquae*, основанная на индивидуальном организменном (individual-based, agent-based) подходе, включающая формирование и дальнейшую судьбу акинет. Анализ показал, что внутренние запасы фосфора в прорастающих акинетах из донных отложений составляют 11% от общего потока фосфора через популяцию. Таким образом, седименты являются не только местообитанием для перезимовки акинет, но и важнейшим источником фосфора для популяции.

С целью расширения спектра продуцентов разрушаемых полиэфиров (полигидроксиалканоатов, ПГА) и сырьевой базы для их биосинтеза получен мутантный штамм, синтезирующий ПГА с высокими выходами и утилизирующий, помимо фруктозы, глюкозу. Штамм зарегистрирован во всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) как *Ralstonia eutropha* В8562.

2. Установлено, что для синтеза многокомпонентных ПГА, состоящих из коротко- (С4-С5) и среднецепочечных (С6-С8) мономеров природными (не рекомбинантными) штаммами-продуцентами рода *Ralstonia*, , возможно два подхода, базирующихся: 1) на параметрически управляемом культивировании бактерий;2) на возможности метаболической регуляции биосинтеза клеточных макромолекул с ингибированием пути бета-окисления,.

Разработаны и реализованы режимы биосинтеза, позволившие синтезировать спектр многокомпонентных ПГА, в том числе новой химической структуры. С применением оптимизированных режимов экстракции очистки получено семейство высокоочищенных образцов многокомпонентных ПГА и исследованы физико-химические свойства.

Установлено, что с увеличением фракции гидроксигексаноата (аналогично влиянию гидроксивалерата, изученного нами ранее) в ПГА на фоне сохранения термопластичности (незначительного снижения температуры плавления и деградации) происходит снижение степени кристалличности ниже 50%, до 36% при 50 %-ном содержании С6 в ПГА.

Впервые исследована способность морских светящихся бактерий синтезировать в качестве резервных макромолекул полиэфиры гидроксикарбоновых кислот (полигидроксиалканоаты, ПГА). Проанализировано 20 штаммов из коллекции светящихся бактерий CCIBSO 839 Института биофизики СО РАН, относящихся к различным таксонам (*Photobacterium leiognathi, Photobacterium phosphoreum, Vibrio harveyi, Vibrio fischeri).* Выделены наиболее продуктивные штаммы, и определены условия, обеспечивающие высокие выходы полимера в периодической культуре (40-70% к весу сухого вещества клетки). Обнаружена способность представителей *Ph. leiognathi* и *V. harveyi* синтезировать двух- и трехкомпонентные полимеры, содержащие в качестве основного мономера гидроксимасляную кислоту и в качестве минорных – гидроксивалериановую и гидроксигексановую кислоты.

*Междисциплинарный интеграционный проект № 38. Новые аффинные сорбенты и высокочувствительные биолюминесцентные сенсоры для молекулярной диагностики.*

В ходе выполнения работ по междисциплинарному интеграционному проекту были получены и исследованы магнитные микрочастицы разного состава и морфологии. Для активации поверхности использовали несколько подходов – химическое травление (пористые ценосферы), нанесение на поверхность силикагельной фазы с помощью золь-гель метода или темплатного синтеза (SiO2/микросферы) и гидротермального синтеза (цеолитизированные микросферы). В качестве эффективного инструмента для изучения поверхностной активности исследуемых материалов использовали рекомбинанатные белки биолюминесцентной системы кишечнополостных – Са2+-активируемый фотопротеин обелин и его производные, а также зеленый флуоресцентный белок. Показано, что в ряду «пористые ценосферы – SiO2/микросферы – цеолитизированные микросферы» наиболее перспективными для использования в качестве твердой подложки в микроанализе являются композитные носители полученные с помощью гидротермального синтеза: они обладают наиболее активной поверхностью (плотность аминогрупп при химической иммобилизации составляет 0, 67 μмол/м2), иммобилизованные на поверхности аминогруппы доступны для последующих модификаций (присоединению биоспецифических молекул) и обладают достаточной механической устойчивостью.

Получены и исследованы композитные магнитоуправляемые частицы Ni2+-SiO2/MM. Показано, что они представляют собой перспективный материал для использования в качестве сорбента для металл-аффинной хроматографии рекомбинантных белков с присоединенными полигистидиновыми фрагментами. Специфическая емкость частиц составляет 2-7 мг/см3 для белков среднего размера (20-30 кДа), что довольно близко к существующим в продаже импортным металл-хелатным смолам (5-10 мг/мл для Ni NTA Agarose и BD Talon, Clontech). Сорбент обеспечивает возможность выделения белков в присутствии ЭДТА, что особенно важно при выделении белков, чувствительных к присутствию катионов двухвалентных металлов.

**1.4. Результаты НИР по грантам Президента для молодых ученых и ведущих научныш школ**

*Грант Президента РФ «Ведущая научная школа» НШ-1211.2008.4*

1. Исследовано влияние растворов америция и урана малой и средней активности на светящиеся бактерии и их ферменты. В условиях хронического воздействия Am-241 установлены эффекты активации биолюминесценции (до 400 %) на начальной стадии и ингибирование биолюминесценции на конечной стадии воздействия. Показано, что эти эффекты зависят от уровня организации системы (бактериальные клетки или ферментативные системы), поврежденности клеток и концентрации радионуклида. Эффекты проявляется при низком содержании Am-241 в растворах (А = 100 Бк/л, С = 10-12 М).

2. При исследовании процесса формирования активного фотопротеинового комплекса из апофотобелка, целентеразина и молекулярного кислорода было показано, что степень тушения флуоресценции остатков триптофанов, входящих в состав апобелка, линейно зависит от концентрации целентеразина. Используя целентеразин-зависимое тушение собственной флуоресценции апофотопротеинов, были впервые определены кажущиеся константы связывания целентеразина с апоакворином и апообелином. Высокие значения констант связывания указывают на сильное сродство целентеразина к субстрат-связывающей полости апофотопротеинов. Используя метод «остановленной струи», была исследована кинетика связывания целентеразина с апо-акворином и апо-обелином. Установлено, что связывание целентеразина с апофотопротеинами происходит в течение нескольких миллисекунд. Так как связывание целентеразина занимает миллисекунды, а формирование активного фотопротеинового комплекса из апобелка, целентеразина и кислорода занимает несколько часов, сделано заключение, что лимитирующим этапом реакции является образование 2-гидропероксицелентеразина. Используя данные по кинетике образования активного фотопротеинового комплекса и упрощенную кинетическую модель, предложенную для описания формирования активного фотопротеинового комплекса, впервые проведена оценка константы скорости реакции для образования 2-гидропероксицелентеразина из целентеразина и молекулярного кислорода в активном центре обелина и акворина.

3. Проведены исследования по выявлению локализации лектина, проявляющего специфичность к N-ацетил-D-галактозамину, в клетках симбиотических светящихся бактерий *Photobacterium phosphoreum* (штамм 1909 IBSO) из коллекции Института биофизики СО РАН (акроним IBSO 836). Штамм выделен из светового органа рыб *Coelorhynchus fasciatus* (семейство *Macrouridae*), обитающих в Индийском океане на глубине 650-660 метров. В ходе исследований установлено, что у симбиотических морских биолюминесцентных бактерий вида *P. phosphoreum* лектин, проявляющий специфичность к N-ацетил-D-галактозамину, локализован в специализированных структурах клеточной поверхности – пилях и по данным SDS-электрофореза имеет молекулярную массу около 15 кДа.

*Грант № МК-1167.2007.4 Некультивируемый бактериопланктон: роль в экосистеме пригородных эвтрофных водохранилищ г. Красноярска*

Сопоставление сезонной динамики отдельных видов бактериопланктона, изученной в течение предыдущего периода работы, с динамикой концентраций потенциальных органических субстратов послужило отправной точкой для экспериментов в микроэкосистемах. Для проведения эксперимента использовались лабораторные микроэкосистемы (МЭС), параметры которых позволяют поддерживать естественное планктонное сообщество изучаемого водоема, по крайней мере, в течение одной недели [Гладышев М.И. Гидробиол. журн.1992. 28, № 5. С .68-77]. В качестве питательных добавок были выбраны аминокислоты, как наиболее доступные органические субстраты, содержание которых в водных экосистемах определяется в основном их биосинтезом первичными продуцентами. Предварительные исследования на водохранилище Бугач показали, что отдельные аминокислоты, как растворенные в воде, так и входящие в состав взвешенного органического вещества (сестона), существенно различаются по содержанию и сезонной динамике концентраций [Kalachova G.S. et al. Aquat. Ecol. 2004. V.38. P.3-15]. Было выдвинуто предположение, что, в отличие от традиционных представлений, согласно которым группы водных бактерий подразделяются на потребителей всего класса тех или иных веществ (например, липидов, сахаров, аминокислот), массовые виды бактериопланктона могут оказаться узкоспециализированными, то есть потребляющими преимущественно лишь одно вещество. Эксперимент проводили в 3 лабораторных МЭС объемом 10 л, которые заполняли нефильтрованной водой, взятой с поверхности пелагиали водохранилища Бугач. Температуру воды в МЭС поддерживали на уровне летней температуры воды в водоеме - 22°С. МЭС были помещены в люминостат (фотопериод – 16 ч свет, 8 ч темнота) с освещением до 7.0 Вт/м2. Для эксперимента были выбраны две аминокислоты: глицин и лизин, в качестве контроля использовали МЭС, не содержащую никаких добавок. Глицин являлся одной из доминирующих аминокислот в водохранилище, его содержание составляло от 6 до 13% от их общей суммы. Содержание лизина было в несколько раз меньше, чем глицина, кроме того, сезонная динамика концентраций обеих кислот в водохранилище достоверно отличалась. В ходе эксперимента ежедневно отбирались пробы бактериопланктона, которые анализировались методом ПЦР-ДГГЭ. Через 6 дней в бактериальном сообществе с добавлением глицина произошел рост численности одного из видов, присутствовавших в исходной контрольной пробе. В МЭС с добавленным лизином ни один из видов, составлявших значительную долю бактериального сообщества исходной пробы, не стал доминирующим.к концу эксперимента. В результате установлено, что глицин – одна из доминирующих аминокислот исследуемого эвтрофного водохранилища, является субстратом для субдоминантного вида бактериопланктона, занимающего определенную позицию на ПЦР-ДГГЭ профиле бактериального сообщества, в то время как лизин, содержание которого в природной воде относительно низкое, не потребляется ни одним из массовых видов бактерий данного водохранилища. В настоящее время проводится определение видовой принадлеж-ности потребляющих аминокислоты бактерий, которые были выявлены в данном эксперименте. Таким образом, экспериментально доказано, что массовые виды бактериопланктона, определяемые без применения методов культивирования, являются узкоспециализированными по способности к потреблению отдельных аминокислот.

*Грант № МК-577.2008.4 Резорбируемые полигидроксиалканоаты в качестве матрикса для депонирования и контролируемой доставки лекарственных препаратов.*

Цель проекта – конструирование пролонгированный лекарственных препаратов с использованием в качестве матрикса резорбируемых полиэфиров (ПГА). В качестве модельного препарата для депонирования в полимерный матрикс в виде пленки использовали шиконин (производства ОАО «Биохиммаш», Москва). Природный биологически активный нафтохинон – шиконин и его производные, используют для лечения ожогов, ран, обморожений и кожных язв. В процессе получения пленок шиконин растворяли в дихлорметане; далее в раствор добавляли навеску полимера. Получены пленки толщиной (0,015±0,003) мм с содержанием шиконина 1 % от массы ПГБ. После стерилизации УФ-излучением пленки помещали встерильный фосфатно-солевой буфер (ФСБ) (рН 7,3). Флаконы экспонировали в термостате при 37 оС. Для определения профиля выхода шиконина периодически измеряли концентрацию шиконина в среде. Остаточного содержания препарата в матриксе анализировали после растворения высушенных пленок в хлороформе. Концентрацию шиконина определяли спектрофотометрически (спектрофотометр Uvicon, Италия). Динамика высвобождения препарата имела постепенный характер, без резких выбросов. В первые сутки эксперимента в среду вышло 22,2 % от веса включенного шиконина, при этом скорость выхода составила 0,053 мкг/мл·ч. Далее скорость выхода постепенно возрастала; к 240 ч наметился выход кривой на плато. Общий выход шиконина к этому моменту составил 45 % от включенного. Скорость выхода снизилась до 0,0013 мкг/мл ч. В дальнейшем объем выхода шиконина, как и скорость вымывания достоверно не изменялись. Средняя скорость выхода препарата составила 7,75·10-6 мг/мл·ч. Аналогичные пленочные системы разработана с включением в них противовоспалительных препаратов нестероидного ряда.

С применением метода микроинкапсулирвоания получены и исследованы микрочастицы диаметром от 0,1 до 50 мкм, которые в силу высокоразвитой поверхности перспектвины в качестве матриксов функционирующих клеток и платформы доставки лекарственных препаратов. Микросферы являются наиболее прогрессивной формой долговременных и контролируемых лекарственных систем нового поколения, предназначенных для различных способов введения на необходимый период времени. Главное достоинство этих систем заключается в возможности длительного и стационарного поддержания требуемого уровня лекарственного препарата в крови и/или тканях. Исследована кинетика ликвации препаратов при различных способах введения животным; установлено отсутствие резких выбросов и медленный отток препаратов в среду.

**2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЖДУНАРОДНЫХ научных СВЯЗЕЙ**

## 2.1. О деятельности Международного центра замкнутых экологических систем (МЦ ЗЭС)

В 2008 году получили дальнейшее развитие совместные международные научные исследования в рамках МЦ ЗЭС. Основное взаимодействие осуществлялось с Европейским Космическим Агентством (ЕКА), Пекинским университетом аэронавтики и астронавтики, (Китай), с университетом им. Б. Паскаля (Франция).

В рамках сотрудничества с Европейским Космическим Агентством (ЕКА) успешно завершено выполнение научно-технический программы по модернизации биорегенеративной системы БИОС-3, которая ведется под эгидой и при коспонсорстве СО РАН и ЕКА. За счет проекта INTAS IA № 03 – 59 – 143, который был завершен в феврале 2008 года в Институт биофизики СО РАН поступил комплект газометрической аппаратуры на общую сумму 50 000 ЕВРО. В феврале 2008 года успешно завершен контракт с ЕКА.

В рамках выполненных проектов завершено оборудование комнаты для размещения в ней Центра Управления экспериментами в БИОС-3 и поддержания связи с организациями, включая зарубежные, которые будут участвовать в выполнении таких экспериментов. В частности, выполнены работы по телекоммуникационным настройкам видеосигналов, обеспечивающих дистанционный контроль световых, температурных и влажностных характеристик в системе БИОС-3, визуализацию процессов, происходящих в системе БИОС-3, которые могут наблюдаться и контролироваться из специально созданного Центра управления работой системы.

В 2008 году отдел систем жизнеобеспечения ЕКА включил сотрудничество с ИБФ СО РАН и выделение финансирования для его поддержки в свой перспективный план на ближайшие годы.

Продолжено развитие научных контактов с китайской стороной. Сотрудник ИБФ СО РАН Советник РАН академик И.И. Гительзон по приглашению Пекинского Университета Аэронавтики и Астронавтики выступил перед профессорско-преподавательским составом и студенческой аудиторией с серией лекций по системам жизнеобеспечения. Представитель Института биофизики СО РАН д.ф.-м.н. Гуревич Ю.Л. посетил в отчетном году Пекинский Университет Аэронавтики и Астронавтики, где прочел лекции по принципам очистки воды применительно к замкнутым системам жизнеобеспечения, обсудил возможности создания совместного научно-образовательного центра по СЖО, провел ряд занятий с китайскими аспирантами. В ноябре-декабре 2008 года по приглашению проф. Liu Hong из указанного выше университета должен состояться научный визит сотрудника ИБФ СО РАН к.б.н. Мануковского Н.С. для обсуждения различных аспектов будущего сотрудничества с данным университетом по разработкам в области систем жизнеобеспечения (СЖО).

Продолжаются работы по выполнению проекта INTAS № 05-1000008-8010 по включению NaCl во внутрисистемный массообмен и включению продуктов физико-химической переработки экзометаболитов человека в питательный раствор высших растений с перспективой их будущего применения в модернизированной системе БИОС-3. За отчетный период в рамках выполнения этого проекта в декабре 2007 года в г. Москве успешно проведено рабочее совещание представителей Университета им. Б. Паскаля (г. Клермонт–Феррант, Франция), Отдела по системам жизнеобеспечения Европейского Космического Агентства (г. Нодвик, Нидерланды), Институтом физиологии растений РАН и ИБФ СО РАН по ходу выполнения работ. За 2008 год проведен подбор и формирование растительных ценозов фототрофного звена экспериментальной модели СЖО, исследованы их фотосинтетические, физиологические и биохимические характеристики, разработаны системы питания растений, как на нейтральном, так и на почвоподобном субстрате, проведено замыкание созданной экспериментальной экосистемы по воде, газу и твердому веществу. Начаты исследования динамических характеристик массообменных процессов созданной системы в режиме длительного (многомесячного) функционирования. Некоторые из этих исследований в июле 2008 года были доложены в совместных докладах как сотрудниками ИБФ СО РАН, так и их партнерами из университета им. Б. Паскаля (Франция) на 37 Ассамблеи COSPAR в Монреале (Канада). Эти и другие работы по СЖО, выполняемые в рамках международного сотрудничества были высоко оценены специалистами по СЖО из различных стран, что было подтверждено решением о целесообразности дальнейшей работы секции по процессам замкнутости массообменных процессов в СЖО в рамках COSPAR под руководством Исполнительного директора МЦ ЗЭС при ИБФ СО РАН проф. Тихомирова А.А.

В целом, в течение 2008 года научные исследования в рамках МЦ ЗЭС успешно продолжались.

**2.2. Информация и краткая характеристика результатов по грантам и хоздоговорам с зарубежными заказчиками:**

**1. Контракт № 353001156 с федеральной Лабораторией г. Шпица (Швейцария). *“Radioecological investigations of the Yenisei River aquatic ecosystem” («*Радиоэкологические исследования водной экосистемы реки Енисей»).** Зарубежный научный центр: Федеральная Лаборатория г. Шпица, Швейцария. Координаторы работ: д.б.н. А.Я. Болсуновский (ИБФ СО РАН), Д-р Марио Бюргер, зав. лабораторией радиохимии (Швейцария). Даты начала и окончания проекта: январь 2008 – декабрь 2008.

В 2008 году продолжалась работа по контракту №353001156 с федеральной Лабораторией г.Шпица (Швейцария) на тему «Радиоэкологические исследования водной экосистемы реки Енисей». Эта работа продолжается в течение нескольких лет. В рамках задач контракта в 2008 году проводился гамма-спектрометрический анализ проб донных отложений, отобранных в 2007-2008 году на разном расстоянии по течению реки Енисей от города Красноярска. Аналитические исследования сухих и сырых проб донных отложений показали, что максимальное содержание 137Cs в пробах донных отложений в районе сел Стрелка и Каргино на расстоянии 330 км от Красноярска достигает 1608 Бк/кг, что совпадает с содержанием радионуклида в пробах вблизи места сброса радиоактивных вод ГХК. Максимальное содержание 241Am, достигающее 38 Бк/кг, также регистрировалось в слоях керна вблизи максимума содержания других техногенных радионуклидов. В пробах донных отложений, выше по течению от ГХК, в районе поселка Удачный (г.Красноярск) обнаружен только один техногенный радионуклид 137Cs с удельной активностью 9.2 Бк/кг. Это значение можно принять как фоновое загрязнение 137Cs донных отложений Енисея в результате глобальных выпадений после ядерных испытаний. Для оценки форм нахождения радионуклидов в донных отложениях использовали метод последовательного химического фракционирования, предложенный ранее проф. Клемтом (Германия). В донных отложениях оценивали формы нахождения следующих радионуклидов: 60Co, 137Cs, 152Eu и 241Am. Результаты химического фракционирования показали, что большинство радионуклидов 60Co и 137Cs находится в донных отложениях в труднорастворимой форме (68% и 85%, соответственно), что свидетельствует о низкой миграционной способности этих радионуклидов. Распределение изотопов 152Eu и 241Am по фракциям донных отложений отличается от изотопов цезия и кобальта. Так, только 5-15% радиоактивности 152Eu и 241Am находится в труднорастворимой форме, а большая часть в органической фракции, которая может быть миграционноспособная. Таким образом, исследуемые радионуклиды могут быть расположены в ряд по уменьшению их подвижности в донных отложениях: 241Am ≥ 152Eu > 60Сo > 137Cs. В 2008 году использовали концентрирование воды осаждением Fe(OH)3 и MnO2 для определения содержания радионуклидов в воде реки Енисей. Эффект концентрирования хорошо проявился для 239Np, для других радионуклидов несколько хуже или не проявился совсем. В пробах воды, отобранных в 2008 году, содержание 239Np составило 0.26-0.49 Бк/л, что сопоставимо с данными 2007 года для данного района (0.22-0.34 Бк/л). Полученные данные по содержанию радионуклидов в воде использовались для расчета коэффициента накопления радионуклидов водными растениями.

**2. Хоздоговор с фирмой Bayer Healthcare AG “*Identification of bioluminescent technologies for in vivo imaging and assays development in target validation and screening*” («Тестирование биолюминесцентных технологий для визуализации процессов *in vivo* и развития методов, позволяющих распознать мишень и провести скрининг»).** Зарубежный научный центр: фирма «Байер», г. Вупперталь, Германия. Координаторы работ: к.б.н. Е.С. Высоцкий (ИБФ СО РАН), Доктор Стефан Гольц, Германия. Даты начала и окончания проекта: октябрь 2007 г. – сентябрь 2009 г.

Получены и охарактеризованы фрагменты люциферазы *Metridia longa* для разработки методов мониторинга белок-белковых взаимодействий.

**3. Хоздоговор с фирмой Cardiogenics Inc. "*Investigation of adaptability of Ca2+-regulated photoprotein obelin as a bioluminescent probe for immunoassays*” («Исследование возможности использования в иммуноанализе Ca2+-регулируемого фотопротеина обелина в качестве биолюминесцентной метки»).** Зарубежный научный центр: фирма «Кардиодженикс», г. Миссисауга, Канада. Координаторы работ: к.б.н. Е.С. Высоцкий (ИБФ СО РАН), Доктор Яхиа Гавад, Канада. Даты начала и окончания проекта: июль 2007 г. – июнь 2009 г.

Получены образцы обелина для применения в иммуноанализе.

**4. Хоздоговор с фирмой LUX Innovate Ltd.** "***Development of experimental samples of crude obelin*” («Разработка метода получения экспериментальных образцов частично очищенного фотопротеина обелина»**). Зарубежный научный центр: фирма «ЛЮКС Инновейт Лтд.», г. Эдинбург, Великобритания. Координаторы работ: к.б.н. Е.С. Высоцкий (ИБФ СО РАН), Доктор Эмма Перфект, Великобритания. Даты начала и окончания проекта: июль 2008 г. – июль 2009 г.

Оптимизированы условия очистки телец включения, содержащих апо-обелин.

**5. Хоздоговор с фирмой LUMINOS LLC** "***Investigation of adaptability of Ca2+-regulated photoprotein obelin as a bioluminescent probe for immunoassays of low molecular weight antigens*” («Исследование возможности использования кальций-зависимого фотопротеина обелина в качестве метки в иммуноанализе антигенов низкой молекулярной массы»).** Зарубежный научный центр: ф.«ЛЮМИНОС ЛЛС», г. Энн Арбор, шт. Мичиган, США. Координаторы работ: к.б.н. Е.С. Высоцкий (ИБФ СО РАН), Доктор Рассел Харт, США. Даты начала и окончания проекта: сентябрь 2008 г. – май 2010 г.

Получены образцы обелина для применения в иммуноанализе низкомолекулярных аналитов.

**6. Контракт между Государственным комитетом по науке Тайваня (ГКНТ) и РФФИ “*Crystal structures of coelenterazine-dependent luciferases of marine luminous organisms”* (“Пространственные структуры целентеразин-зависимых люцифераз морских светящихся организмов»).** Зарубежный научный центр: Национальный синхротронный исследовательский центр, г. Хсинчу, Тайвань. Координаторы работ: к.б.н. Е.С. Высоцкий (ИБФ СО РАН), Доктор Чун-Юнг Чен, Тайвань. Даты начала и окончания проекта: октябрь 2007 г. – сентябрь 2008 г.

Созданы конструкции для двух изоформ люциферазы *Metridia longa* (MLuc39 и MLuc7) для их экспрессии в клетках насекомых. Три изоформы люциферазы *M. longa* (MLuc164, MLuc39 и MLuc7) были экспрессированы в клетках насекомых *Sf9* и получены в количествах достаточных для проведения первоначального скрининга условий кристаллизации. Для первоначального скрининга условий были использованы растворы, приготовленные из коммерчески доступных растворов для кристаллизации: Crystal Screen, MemFac, PEG Ion, Index, Crystal Screen Cryo, Crystal Screen II (Hampton Research), Wizard I & II (Dedode Genetics).

7. **Международный грант РФФИ – ННФ\_а № 06-04-90234 "Международное сотрудничество по разработке материалов: конструирование наноалмазов для детоксикации".** Зарубежный научный центр: Департамент материаловедения и инженерии Государственного университета Северной Каролины, Ралли, США). Координаторы работ: д.б.н. В.С.Бондарь (ИБФ СО РАН, Красноярск, Россия), доктор Дональд В. Бреннер, США. Даты начала и окончания проекта: июнь 2006 г. - июль 2009 г.

Исследования проводились в двух основных направлениях: эксперименты in vitro фокусировались на поиске возможных вариантов модификации поверхности наночастиц с помощью различных соединений для повышения их сорбционной способности к микотоксину АфВ1; эксперименты in vivo – на изучении влияния на организм экспериментальных животных и птиц АфВ1 при его пероральном введении без и в присутствии наноалмазов. In vitro показано, что предварительная обработка наноалмазов широким спектром соединений (биомолекулы, ионы металлов, денатурирующие агенты и т.д.) не приводит к существенному повышению сорбционной емкости наноматериала к АфВ1. Выявлено, что предварительная инкубация микотоксина в системе пероксидаза-перекись значительно повышает адсорбцию АфВ1 на наночастицы с иммобилизованным гуанином. Установлено, что наноалмазы проявляют каталитическую активность в органических реакциях и способны дезактивировать АфВ1 в присутствии окислителей. Сделано предположение, что дезактивация АфВ1 под действием наноалмазов может происходить за счет расщепления лактонового кольца. В экспериментах in vivo установлено, что АфВ1 обладает разнонаправленным эффектом действия на разные виды светоизлучающих бактерий. Показано, что эффект нивелируется после предварительной обработки микотоксина наноалмазами, что свидетельствует в пользу дезактивации АфВ1 при контакте с наночастицами. В исследованиях in vivo показано также, что при пероральном введении АфВ1 животным и птицам отмечаются изменения их общего состояния, наблюдаются изменения печени и гематологических показателей. Предварительный анализ полученных данных, свидетельствует в пользу того, что при введении микотоксина на фоне наноалмазов наблюдается снижение токсического эффекта.

**8. Международный грант РФФИ - Вьет\_а № 08-04-90307 "Исследование механизмов биолюминесценции грибов на основе определения генетических детерминант (lux-генов) биолюминесценции грибов, выделение компонентов биолюминесцентной системы и веществ с противоопухолевым действием (иллудин и лектин с N-ацетил-D-галактозаминной специфичностью) из люминесцентного гриба Omphalotus af. Illudent".** Научный центр: Российско-Вьетнамский тропический научно-исследовательский центр, Хо Ши Мин, Вьетнам. Координаторы работ: академик РАН И.И. Гительзон (ИБФ СО РАН, Красноярск, Россия), доктор Дао Тхи Ван (BIO-LUMI Co., Ltd., Хо Ши Мин, Вьетнам). Даты начала и окончания проекта: сентябрь 2008 г.- сентябрь 2010 г.

Получена чистая культура светящегося гриба Omphalotus af. Illudent на агаризованной среде. Ведется поиск оптимальных режимов культивирования светящегося гриба в лабораторных условиях на твердых и жидких питательных средах с целью получения максимального количества биомассы с высоким уровнем интенсивности свечения. Испытаны три агаризованные и две жидкие среды различного состава.

Начаты исследования, направленные на изучение структурно-функциональной организации люминесцентной системы светящегося гриба Omphalotus af. Illudent. По предварительным данным люминесцентная система этого вида гриба является кислород-зависимой и чувствительной к воздействию ионов двухвалентных металлов.

**9. Проект РФФИ - Голландский научный фонд № 05-05-89002 НВО\_а "Новая интегральная модель функционирования экосистемы озера: анализ устойчивости и управляемости".** Зарубежный научный центр: Голландский институт экологии, Нидерланды. Координаторы работ: член-корр. РАН А.Г. Дегерменджи (ИБФ СО РАН, Красноярск, Россия), проф. Елена ван Донк (Голландский институт экологии, Нидерланды). Даты начала и окончания проекта: 2005 г.- 2008 г.

В рамках проекта: - разработан ряд гидрофизических моделей одномерного и двумерного плана, описывающих сезонную летнюю и зимнюю динамику основных гидрофизических параметров водоема: температуры, солености воды, турбулентную диффузию; - разработана универсальная гидробиологическая модель, описывающая планктонное сообщество, бактериальное сообщество зоны хемоклина и вертикальную динамику основных биохимических компонент водоема; - разработана дискретная модель зоопланктона, описывающая популяционную динамику и вертикальную структуру доминирующего вида на основе индивидуальных миграций; - разработана математическая модель, описывающая протозоа компоненту исследуемого водоема; - проведен ряд полевых и лабораторных экспериментов по идентификации бактериального сообщества исследуемых водоемов, объяснению динамики бактериального сообщества в различные сезоны; - разработаны основы теории масштабирования экосистем в приложении к проблемам стратификации.

**10. Международный контракт № 17304 с Европейским Космическим Агентством.** Зарубежный научный центр: Европейское Космическое Агентство (ESA), г. Нордвик, Нидерланды. Координаторы работ: д.б.н. А.А. Тихомиров (ИБФ СО РАН), доктор Христофер Лассер (Франция). Даты начала и окончания проекта: 2006г. – 15.02.2008.

Данный контракт был завершен в феврале 2008 года. За данный период текущего года был подготовлен и передан заказчику отчет о ранее выполненных работах, включавших модернизацию в БИОС-3 светотехнического оборудования для создания высоких уровней облученности при культивировании растений фототрофного звена, принципы реконструкции культивационных установок в БИОС-3, герметизации отсеков БИОС-3, газометрических измерений фотосинтеза растений в модернизированном отсеке БИОС-3, создание систем контроля и управления параметрами внешней среды в БИОС-3.

## 2.3. Зарубежные командировки сотрудников Института

За отчетный период сотрудники Института принимали участие в международных конференциях и совместных работах с зарубежными коллегами. Ниже приводится список сотрудников, выезжавших в зарубежные командировки:

**БАРХАТОВ Ю.В.** (1972 г.р.), к.ф.-м.н., с.н.с.:

- Нидерланды, г. Ньюверслюис (20 июня-1 июля), научная работа по Российско- Голландскому гранту РФФИ.

**БОЛСУНОВСКИЙ А.Я.** (1953 г.р.), зав. лаб., д.б.н.:

- Швейцария, г. Шпиц (8-13 марта), участие в рабочем радиоэкологическом совещании.

- Норвегия, г. Берген (15-22 июня), Международная конференция «Радиоэкология и радиоактивность окружающей среды».

**БОНДАРЕВА Л.Г.** (1965 г.р.), к.х.н., с.н.с.:

- Норвегия, г. Берген (15-22 июня), Международная конференция «Радиоэкология и радиоактивность окружающей среды».

**БОРИСОВА В.В.** (1982 г.р.), м.н.с.:

- Греция, г. Патры (1октября- 31 декабря), проведение совместных исследований в университете по проекту INTAS.

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

**БУРАКОВА Л.П.** (1969 г.р.), н.с.:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

- Вьетнам, г. Нячанг (18 сентября-15 октября), научные исследования биолюминесцентных организмов морского зоопланктона в Тропическом центре по Российско- Вьетнамскому гранту РФФИ.

**ВЫДРЯКОВА Г.А.** (1961 г.р.), к.б.н., н.с.:

- Вьетнам, г. Хо Ши Мин (1-16 декабря), научные исследования в Тропическом центре по Российско- Вьетнамскому гранту РФФИ.

**ВЫСОЦКИЙ Е.С.** (1952 г.р.), зав. лаб., к.б.н.:

- Тайвань, г. Хсинчу (7-15 марта), обсуждение результатов исследований по совместному Российско- Тайваньскому проекту.

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

**ГИТЕЛЬЗОН И.И.** (1928 г.р.), академик РАН, советник РАН:

- Вьетнам, г. Нячанг (18 сентября-15 октября), научные исследования биолюминесцентных организмов морского зоопланктона в Тропическом центре по Российско- Вьетнамскому гранту РФФИ.

- КНР, г. Пекин (19-26 октября), чтение лекций, проведение семинаров в Пекинском университете.

**ГЛАДЫШЕВ М.И.** (1959 г.р.), д.б.н., зам. директора:

- Канада, г. Сент Джонс (8- 13 июня), Международная конференция ASLO, Summer Meeting.

**ГОРЕВА А.В.** (1984 г.р.), аспирант:

- Ирландия, г. Дублин (2-9 сентября), 16 Международная конференция по биоинкапсулированию.

**ГУРЕВИЧ Ю.Л.** (1941 г.р.), зав. лаб., д.ф.-м.н.:

- КНР, г. Пекин (5-24 мая), 2 Международная конференция по биоинформатике и биомедицинской инженерии; обсуждение научного сотрудничества с Пекинским аэрокосмическим университетом.

**ДЕГЕРМЕНДЖИ А.Г.**

- Нидерланды, г. Ньюверслюис (20 июня-1 июля), научная работа по Российско- Голландскому гранту РФФИ.

**ДЕМЕНТЬЕВ Д.В.** (1981 г.р.), к.б.н., м.н.с.:

- Норвегия, г. Берген (15-22 июня), Международная конференция «Радиоэкология и радиоактивность окружающей среды».

**ЕРЕМЕЕВА Е.В.** (1983 г.р.), аспирант:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая 2008г.), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

**ЕСИМБЕКОВА Е.Н.** (1969 г.р.), к.б.н., н.с.:

- КНР, г. Далянь (11-18 октября), 13 Международный биотехнологический симпозиум.

**ЗОТИНА Т.А.** (1972 г.р.), к.б.н., с.н.с.:

- Норвегия, г. Берген (15-22 июня), Международная конференция «Радиоэкология и радиоактивность окружающей среды».

**КОЛМАКОВА А.А.** (1963 г.р.), ведущий технолог:

**-** Ирландия, г. Голуэй (20 июня-1 июля), 11 Международная конференция по прикладной фикологии.

**МАЛИКОВА Н.П.** (1976 г.р.), н.с., к.б.н.:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая 2008г.), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

**МАНУКОВСКИЙ Н.С.** (1949 г.р.), с.н.с., к.б.н.:

- КНР, г. Пекин (11-26 мая 2007г.), 16 Симпозиум Международной астронавтической ассоциации; обсуждение научного сотрудничества с Пекинским аэрокосмическим университетом.

**МАРКОВА С.В.** (1963 г.р.), к.б.н., с.н.с.:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая 2008г.), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

- Вьетнам, г. Нячанг (18 сентября- 15 октября), научные исследования биолюминесцентных организмов морского зоопланктона в Тропическом центре по Российско- Вьетнамскому гранту РФФИ.

**МАХУТОВА О.Н.** (1981 г.р.), к.б.н., н.с.:

- Канада, г. Сент Джонс (8- 13 июня), Международная конференция ASLO, Summer Meeting.

**МЕДВЕДЕВА С.Е.** (1944 г.р.), к.б.н., с.н.с.:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая 2008г.), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

**ПАСЬКО И.В.** (1985 г.р.), аспирант:

- Канада, г. Монреаль (13- 20 июля), 37 Ассамблея COSPAR.

**ПРОКОПКИН И.Г.** (1976 г.р.), н.с., к.ф.-м.н.:

- Нидерланды, г. Ньюверслюис (20 июня- 1 июля), научная работа по Российско- Голландскому гранту РФФИ.

**ПУЗЫРЬ А.П.** (1951 г.р.), с.н.с.:

- КНР, г. Маньчжурия (20 сентября- 2 октября), участие в 5 Китайско-Российско-Монгольской выставке по науке и технике.

**ПУРТОВ К.В.** (1977 г.р.), к.б.н., с.н.с.:

- КНР, г. Маньчжурия (20 сентября- 2 октября), участие в 5 Китайско-Российско-Монгольской выставке по науке и технике.

**РОЖКО Т.В.** (1972 г.р.), м.н.с.:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая 2008г.), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

**СТЕПАНЮК Г.А.** (1980 г.р.), м.н.с.:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12- 24 мая), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

- Тайвань, г. Хсинчу (2 июля- 30 сентября), работа по совместному Российско- Тайваньскому проекту в Национальном синхротронном исследовательском центре.

**СУЩИК Н.Н.** (1970 г.р.), д.б.н., в.н.с.:

- Канада, г. Сент Джонс (8- 13 июня), Международная конференция ASLO, Summer Meeting.

**ТИТУШИН М.С.** (1986 г.р.), лаборант-исследователь:

- КНР, г. Пекин (29 июня 2007г.- 31.12.2008г.), проведение совместных работ по кристаллизации белков в Институте биофизики Китайской академии наук.

**ТИХОМИРОВ А.А.** (1947 г.р.), д.б.н., зав. лаб.:

- Нидерланды, г. Нордвик (25 июня- 1 июля 2008г.), обсуждение планов работ по программе «Мелисса» Европейского Космического Агентства.

- Канада, г. Монреаль (11- 30 июля 2008г.), 37 Ассамблея COSPAR.

**ТИХОМИРОВА Н.А.** (1982 г.р.), к.б.н., н.с.:

- Канада, г. Монреаль (11- 30 июля 2008г.), 37 Ассамблея COSPAR.

**ФРАНК Л.А.** (1954 г.р.), к.б.н., в.н.с.:

- КНР, гг. Пекин, Шанхай (12-24 мая 2008г.), 15 Международный симпозиум по биолюминесценции и хемилюминесценции.

**ХОДЯЕВ А.В.** (1983 г.р.), аспирант:

- Канада, г. Монреаль (13- 20 июля), 37 Ассамблея COSPAR.

**ШЕВЫРНОГОВ А.П.** (1942 г.р.), д.т.н., зам. директора:

- Канада, г. Монреаль (13- 20 июля), 37 Ассамблея COSPAR.

**ШИШАЦКАЯ Е.И.** (1974 г.р.), с.н.с., к.м.н.:

- Ирландия, г. Дублин (2-9 сентября), 16 Международная конференция по биоинкапсулированию.

# **2.4. Посещение Института зарубежными учеными**

Со 2 по 12 августа 2008 года проведен ряд совместных рабочих семинаров по Российско- Голландскому гранту РФФИ- НВО № 05-05-89002 с участием ученых:

**- ГУЛАТИ Рамеш Датт** (Gulati Ramesh Datt, 05.11.1935г.) - заслуженный советник Института экологии, Нидерланды;

**- ЯНСЕ Ян** (Janse Jan, 21.09.1955г.) - научный сотрудник нидерландского агентства по оценке окружающей среды, Нидерланды;

**- МООЙ Волфганг** (Mooi Wolfgang, 26.12.1957г.) - старший научный сотрудник Института экологии, Нидерланды;

**- ДЕ АНГЕЛИС** Доналд Ли (De Angelis Donald Lee, 07.06.1944г.) - старший научный сотрудник Департамента биологии Университета Майами, США.

С 9 по 15 сентября 2008 года проведено обсуждение совместных научных исследований Института биофизики СО РАН и Института биофизики Китайской Академии наук (г. Пекин) по изучению структуры биолюминесцентных белков из различных морских организмов с участием ученых:

**- ЛЮ Чжицзе** (Liu Zhijie, 16.10.1962г.) - профессор Института биофизики Китайской Академии наук, КНР;

**- СЯ Сяокэ** (Xia Xiaoke, 07.04.1957г.) - заместитель директора отдела международных связей Института биофизики Китайской Академии наук, КНР.

# **3. НАУЧНО-ОРГАНИЗАЦИОННАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ**

## 3.1. Работа Ученого совета Института

За отчетный период состоялось 14 заседаний Ученого совета, на которых обсуждались вопросы научной и научно-организационной деятельности Института, включая утверждение и принятие планов и отчетов НИР; планов проведения экспедиционных исследований, работ по ФЦП «Интеграция» и исследований, поддержанных грантами научных фондов. Заслушивались и обсуждались научные сообщения и научные доклады; отчеты о научных командировках; вопросы подготовки кадров; участия Института в конкурсах фундаментальных работ СО РАН и РАН; информация о финансировании и перспективах Института и др.

В рамках усовершенствования структуры института по итогам многолетних рейтинговых оценок ликвидирована одна лаборатория (лаборатория экологической биотехнологии), в одной лаборатории произошла смена заведующего и изменено ее название (лаборатория бактериальной биолюминесценции переименована в лабораторию нанобиотехнологии и бактериальной биолюминесценции).

В отчетном году функционировал диссертационный совет Д 003.007.01; проведено 7 защит кандидатских диссертаций.

## 3.2. Научные кадры и аспирантура.

Численность Института биофизики по состоянию на 01.12.08 года составила 175 человек, из них научных работников - 68, в том числе 1 академик, 1 член-корреспондент РАН, 17 докторов наук и 47 кандидатов наук, штатных молодых сотрудников в возрасте до 33 лет – 18 человек.

В очной аспирантуре обучается 16 аспирантов, в заочной - 2. В 2008 году принято в очную аспирантуру 4 человека. Окончили аспирантуру 7 человек, из них 3- с представлением диссертационной работы, 4- без представления. Отчислены из аспирантуры 5 человек по собственному желанию, 1- за неуспеваемость.

**3.3. Список сотрудников института, удостоенных в 2008г. правительственных и научных наград и премий.**

1. Медалью ордена «За заслуги перед Отечеством II степени» Указаом Президента РФ № 1795 от 18 декабря 2008 года награждены:

**Волова Татьяна Григорьевна,** зам.директора, д.б.н, проф.

**Дегерменджи Андрей Георгиевич**, директор, д.ф.-м.н., член-корр. РАН

2. Премия СО РАН имени академика И.А. Терскова присуждена к.м.н., с.н.с. **Шишацкой Е.И.**

3. На конкурсе "Будущее шовных материалов", организованном фирмой B Braun и ассоциации сердечно-сосудистых хирургов России, с.н.с. **Шишацкой Е.И.** с соавторами (Волова Т.Г.. Гордеев С.А.) присуждена национальная премия (2 место)

4. Профессорская премия главы города Красноярска 2008 г. присуждена зам.директора ИБФ СО РАН, д.б.н. **Воловой Т.Г.**

5. Государственная премия г. Красноярска 2008 г. присуждена аспирантке **Войновой О.Н.**

**4. СВЕДЕНИЯ О ПУБЛИКАЦИЯХ ИБФ СО РАН за 2008 г.**

**4.1. Монографии и учебные пособия**

Хлебопрос Р.Г., Охонин В.А., Фет А.И. Катастрофы в природе и обществе: Математическое моделирование сложных систем. Новосибирск: Издательский дом "Сова". 2008. 360 с.

**4.2. Статьи в рецензируемых отечественных журналах**

1. Бондарева Л.Г., Болсуновский А.Я., Трапезников А.В., Дегерменджи А.Г. Использование новой методики концентрирования трансурановых элементов в пробах воды р. Енисей // Доклады АН. 2008. Т. 423, № 4. С. 479-482.
2. Бондарева Л.Г., Болсуновский А.Я. Изучение форм нахождения техногенных радионуклидов 60Co, 137Cs, 152Eu, 241Am в донных отложениях р. Енисей // Радиохимия. 2008. № 5. С. 475-479.
3. Бондарь В.С., Пуртов К.В., Пузырь А.П., Барон А.В., Гительзон И.И. Каталитическая активность наноалмазных частиц в органических реакциях // Доклады АН. 2008. Т. 418, № 2. С. 267-269.
4. Бондарь В.С.,Пузырь А.П., Пуртов К.В., Могильная О.А., Выдрякова Г.А., Тюлькова Н.А., Родичева Э.К., Медведева С.И., Дегерменджи А.Г., Гительзон И.И. Детонационный наноалмаз: создание новых материалов и технологий для выделения белков // Российские нанотехнологии. 2008. Т. 3, № 5-6. С. 38-41.
5. Борисова В.В., Пышная И.А., Пышный Д.В., Франк Л.А. Высокочувствительный и быстрый метод выявления ДНК-фрагментов с использованием фотопротеина обелина как репортера // Биоорганическая хим. 2008. Т. 34, № 6. С. 792-798.
6. Бояндин А.Н., Калачева Г.С., Родичева Э.К., Волова Т.Г. Синтез резервных полигидроксиалканоатов светящимися бактериями // Микробиология. 2008. Т. 77, № 3. С. 364-369.
7. Волова Т.Г., Войнова О.Н., Калачева Г.С., Гродницкая И.Д. Перспективы использования резорбируемых полиэфиров для конструирования безопасных форм пестицидов // Доклады АН. 2008. Т. 418, № 3. С. 1-4.
8. Войнова О.Н., Кожевникова Н.А., Гладышев М.И., Волова Т.Г. Деградация биопластиков в природных водоемах с различными экологическими характеристиками // Доклады АН. 2007. Т. 417, № 1. С. 130-132.
9. Выдрякова Г.А., Бондарь В.С. О локализации лектина, обладающего специфичностью к N – ацетил D – галактозамину, в клетках симбиотических морских бактерий Photobacterium phosphoreum // Доклады АН. 2008. Т. 420, № 6. С. 829-831.
10. Гуров Е.А., Кузнецов П.В., Бондарь В.С., Пузырь А.П. К попытке использования выделения гуминовых веществ из препаратов мумие на основе детонационных алмазов // Ползуновский вестник. 2008. № 3. С. 273-275.
11. Гусев А.А., Каргатова Т.Н., Медведева С.Е., Попова Л.Ю. Количественные критерии оценки эффективности экспрессии биолюминесценции у природных и трансгенных светящихся бактерий // Биофизика. 2008. Т. 53, № 5. С. 836-841.
12. Дубовская О.П., Семенченко В.П., Гладышев М.И., Бусева Ж.Ф., Разлуцкий В.И. Показатели смертности, не связанной с хищниками, у кладоцерного зоопланктона в пелагиали и литорали мелководного слабоэвтрофного озера // Доклады АН. 2007. Т. 416, № 6. С. 836-838.
13. Дубовская О.П. Оценка количества мертвых особей рачкового зоопланктона в водоеме с помощью окрашивания проб анилиновым голубым: методические аспекты применения // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 2. P. 145-161.
14. Зотина Т.А., Калачева Г.С., Болсуновский А.Я., Дегерменджи А.Г. Распределение 241Am в биомассе пресноводных макрофитов // Доклады АН. 2008. Т. 421, № 3. С. 426-429.
15. Зотина Т.А., Болсуновский А.Я., Бондарева Л.Г. Накопление 241Am взвешенным веществом реки Енисей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48, № 1. С. 117-122.
16. Инжеваткин Е.В., Неговорова В.А., Савченко А.А., Слепков В.А., Cлепов Е.В., Суховольский В.Г., Хлебопрос Р.Г. Пороговые эффекты в управлении популяционной динамикой раковых клеток в организме // Проблемы управления. 2008. № 5. С. 73-79.
17. Камендов И.В., Старосветский С.И., Шишацкая Е.И., Волова Т.Г. Морфологический особенности остеогенеза с применением биополимера из полигидроксибутирата и его композиций // Институт стоматологии. 2008. № 2. С. 92-93.
18. Кравчук Е.С., Гладышев М.И., Иванова Е.А. Зависимость степени доминирования *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) Breb в фитопланктонном сообществе от начальной численности акинет // Доклады АН. 2007. Т. 416, № 5. С. 713-714.
19. Протопопов А.В., Константинов Е.П., Шишацкая Е.И., Ефремов С.Н., Волова Т.Г, Гительзон И.И. Использование резорбируемых полиэфиров для повышения биосовместимости внутрисосудистых стентов // Технология живых систем. 2008. Т. 5, № 2-3. С. 25-34.
20. Пуртов К.В., Пузырь А.П., Бондарь В.С.Сорбенты на основе наноалмазов – новые носители для колоночной хроматографии белков // Доклады АН. 2008. Т. 419, № 4. С. 560-562.
21. Севастьянов В.И., Немец Е.А., Волова Т.Г., Марковцева М.Г. Трехмерные пористые матриксы для трансплантации клеток на основе биодеградируемого бактериального сополимера "Биопластотан" // Перспективные материалы. 2007. № 6. С. 5-10.
22. Сидько А.Ф., Пугачева И.Ю., Шевырногов А.П. Исследование динамики спектральной яркости посевов сельскохозяйственных культур в период вегетации на территории Красноярского края // Доклады АН. 2008. Т. 419, № 3. С. 417-420.
23. Сидько А.Ф., Пугачева И.Ю., Шевырногов А.П. Анализ динамики спектральной отражательной способности посевов сельскохозяйственных культур в период вегетации на территории Красноярского края и республики Хакасия по наземным и спутниковым измерениям // Исследование Земли из космоса. 2008. № 6. С. 1-8.
24. Сущик Н.Н. Роль незаменимых жирных кислот в трофометаболических взаимодействиях в пресноводных экосистемах (обзор) // Журн. Общ. Биол. 2008. Т. 69, № 4. С. 299-316.
25. Сущик Н.Н., Гладышев М.И., Махутова О.Н., Кравчук Е.С., Дубовская О.П., Калачёва Г.С. Сезонное перемещение пула незаменимой эйкозопентаеновой кислоты по пелагической трофической цепи эвтрофного водохранилища // Доклады АН. 2008. Т. 422, № 6. С. 848-849.
26. Томилин Ф.Н., Антипина Л.Ю., Высоцкий Е.С., Овчинников С.Г., Гительзон И.И. Флуоресценция кальций-разряженного обелина: структура и молекулярный механизм формирования эмиттера. Доклады АН. 2008. Т. 422, № 3. С. 1-6.
27. Хлебопрос Р.Г., Новиков В.Н., Вшивкова О.А., Круглик О.В., Моргулис И.И. Элиминация популяций иксодового клеща из экосистем // Доклады АН. 2008. Т. 420, № 6. С. 1-2.
28. Шишацкая Е.И., Горева А.В., Войнова О.Н., Инжеваткин Е.В, Волова Т.Г., Хлебопрос Р.Г. Оценка противоопухолевой эффективности рубомицина, депонированного в резорбируемые полимерные микрочастицы // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 2008. Т. 145, № 3. С. 333-336.
29. Шишацкая Е.И., Войнова О.Н., Горева А.В., Могильная О.А., Волова Т.Г. Реакция тканей на имплантацию микрочастиц из резорбируемых полимеров при внутримышечном введении // Бюлл. эксп. биол. мед. 2007. Т. 144. № 12. С. 635-639.
30. Юзова В.А., Пузырь А.П. Введение ультрадисперсного порошка алмаза детонационного синтеза в каналы пористого кремния // Письма в ЖЭТФ. 2008. Т. 34, Вып. 10. С. 34-38.
31. Dubovskaya O.P. Evaluation of possible causes of non-predatory mortality of crustacean zooplankton in a small Siberian reservoir // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 1. P. 3-18.
32. Gitelson I.I., Lisovsky G.M. Creation of Closed Ecological Life Support Systems: Results, Critical Problems and Potentials // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 1. P. 19-39.
33. Makhutova, O.N., Khromechek, E.B. Fatty acids of sestonic lipid classes as a tool to study nutrition spectra of rotifers and ciliates in a Siberian eutrophic reservoir // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 1. P. 40-59.
34. Rogozin D.Yu., Degermendzhy A.G. Hydraulically-operated thin-layer sampler for sampling heterogeneous water columns // Journal of Siberian Federal University. 2008. No. 1. P. 111-117.
35. Rozhko T.V., Kudryasheva N.S., Aleksandrova M.A., Bondareva L.G., Bolsunovsky A.A., Vydryakova G.V. Comparison of effects of Uranium and Americium on bioluminescent bacteria // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 1. P. 60-65.
36. Shishatskaya E.I., Voinova O.N, Goreva A.V, Mogilnaya O.A, Volova T.G. Biocompatability of polyhydroxybutyrate Microspheres: in vitro and in vivo evaluation // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 1. P. 66-77.
37. Tikhomirova N.A., Ushakova S.A., Tikhomirov A.A., Kalacheva G.S., Gros J.-B. *Salicornia europaea* L. (fam. Chenopodiaceae) Plants as Possible Constituent of Bioregenerative Life Support Systems’ Phototrophic Link // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 2. Р. 118-125.
38. Ushakova S.A., Tikhomirov A.A., Velichko V.V., Zolotukhin I.G., Kudenko Y.A., Golovko T.K. The Estimation of the Stability of Plants Constituting the Photosynthesizing Unit of Bioregenerative Life Support Systems for Including Them into the Plant Waste Mass Exchange // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 1. Р. 78-90.
39. Volova T.G., Gordeev S.A., Shishatskaya E.I. Production of oriented fibers out of poly(hydroxybutyrate/hydroxyvalerate) copolymers and testing of mechanical stabilityv under static and cyclic loads // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 2. P. 126-135.
40. Volova T.G., Kalacheva G.S., Steinbuchel A. Biosinthesis multi-component Polyhydroxyalkanoates by the bacterium Wautersia eutropha // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2008. No. 1. P. 91-101.
41. Zotina T.A. The biomass of macrophytes at several sites of the upper reaches of the Yenisei River // Journal of Siberian federal university. Biology. 2008. No. 1. Р. 102-108.

**4.3. Статьи в рецензируемых зарубежных журналах**

1. Bartsev S.I., Degermendzhi A.G., Erokhin D.V. Principle of the worst scenario in the modelling past and future of biosphere dynamics // Ecological modeling. 2008. V. 216. P. 160-171.
2. Bartsev S.I., Mezhevikin V.V. On initial steps of chemical prebiotic evolution: Triggering autocstslytic reaction of oligomerization // Adv. in Space Research. 2008. V. 42. P. 2008-2013.
3. Belogurova N.V., Kudryasheva N.S., Alieva R.R., Sizykh A.G. Spectral components of bioluminescence of aequorin and obelin // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 2008. V. 92, No. 2. P. 117-122.
4. Bolsunovsky A., Bondareva L. Accumulation and release of 99Tc by a macrophytes of the Yenisei River (Elodea canadensis) in laboratory experiment // Journal of Radioanalytical and Nuclear chemistry. 2008. V. 277, No. 3. P. 631-636.
5. Borisova V.V., Frank L.A., Markova S.V., Burakova L.P., Vysotski E.S. Recombinant Metridia luciferase isoforms: expression, refolding and applicability for in vitro assay // Photochem. Photobiol. Sci. 2008. V. 7, No. 9. P. 1025-1031.
6. Boyandin A., Kalacheva G.S., Medvedeva S., Rodicheva E., Volova T.G. Luminous bacteria as producers of polyhydroxyalkanoates // Macromol. Symposia. 2008. V. 269. Р. 17-22.
7. Chengying Yu, Hong Liu, Yidong Xing, Manukovsky N.S., Kovalev V.S., Gurevich Yu.L. Bioconversion of rice straw into a soil-like substrate // Acta Astronautica. 2008. V. 63. Р. 1037-1042.
8. Esimbekova E.N., Kratasyuk V.A. Bioluminescent enzymatic tests for ecological monitoring // Ecology and Safety, International Scientific Publications. 2008. V. 2, Part 1. P. 578-586.
9. Frank L.A., Borisova V.V., Markova S.V., Malikova N.P., Stepanyuk G.A., Vysotski E.S. Violet and greenish photoprotein obelin mutants for reporter applications in dual-color assay // Anal. Bioanal. Chem. 2008. V. 391, No. 8. P. 2891-2896.
10. Gladyshev M.I., N. Sushchik N.N., Dubovskaya O.P., Makhutova O.N., Kalachova G.S. Growth rate of *Daphnia* feeding on seston in a Siberian reservoir: the role of essential fatty acid // Aquat. Ecol. 2008. V. 42. P. 617-627.
11. Gurevich Yu.L., Manukovsky N.S., Kovalev V.S., Degermendzy A.G., Hu Dawei, Hu EnZhu, Liu Hong. The carbon cycle in a bioregenerative life support system with a soil-like substrate // Acta Astronautica. 2008. V.63. Р. 1043-1048.
12. Hellweger F.L., Kravchuk E.S., Novotny V., Gladyshev M.I. Agent-based modeling of the complex life cycle of a cyanobacterium (Anabaena) in a shallow reservoir // Limnol. Oceanogr. 2008. V. 53. P. 1227–1241.
13. Kolmakov V.I., Anishchenko O.V., Ivanova E.A., Gladyshev M.I., Sushchik N.N. Estimation of periphytic microalgae gross primary production with DCMU-fluorescence method in Yenisei River (Siberia, Russia) // J. Appl. Phycol. 2008. V. 20. P. 289-297.
14. Liu H., Yu C.Y., Manukovsky N.S., Kovalev V.S., Gurevich Yu.L., Wang J.A. conceptual configuration of the lunar base bioregenerative life support system including soil-like substrate for growing plants // Adv. Space Res. 2008. V. 42. Р. 1080-1088.
15. Lobova T.I., Barkhatov Yu.V., Salamatina O.V., Popova L.Yu. Multiple antibiotic resistance of heterotrophic bacteria in the littoral zone of Lake Shira as an indicator of human impact on the ecosystem // Microbiological Research. 2008. V. 163. P. 152-160.
16. Markelova N.M., Shishatskaya E.I., Vinnic Y.S., Cherdansev D.V., Beletskiy I.I., Kyznecov M.N., Zykova L.D. In vivo justification of using endobiliary stents made of bioresorbable polyhydroxyalkanoates // Macromol Symposia. 2008. V. 269. P. 82-91.
17. Pechurkin N.S., Somova L.A. Biospherics approach for studies of natural and artificial ecosystems // Adv. in Space Research. 2008. V. 41, No. 5. P. 691-695.
18. Pisman T.I., Pechurkin N.S. Host-Parasite Interactions in Closed and Open Microbial Cultivation System // Adv. in Space Research. 2008. V. 41, No. 5. P. 773-776.
19. Purtov K.V., Burakova L.P., Puzyr A.P., Bondar V.S. Interaction of linear and ring forms of DNA molecules with nanodiamonds synthesized by detonation // Nanotechnology. 2008. V. 19. P. 1-3.
20. Shevyrnogov A., Vysotskaya G., Sukhinin A., Frolikova O., Tchernetsky M. Results of analysis of human impact on environment using the time series of vegetation satellite images around large industrial centers // Adv. in Space Research. 2008. V. 41, No. 1. P. 36-40.
21. Shishatskaya E.I. Biomedical investigation, application of PHA // Macromol Symposia. 2008. V. 269. P. 65-81.
22. Shishatskaya E.I., Voinova O.N., Goreva A.V., Mogilnaya O.A., Volova T.G. Biocompatability of polyhydroxybutyrate Microspheres: in vitro and in vivo evaluation // J. Mater Sci: Mater Med. 2008. V. 19, No. 6. P. 2493-2502.
23. Stepanyuk G.A., Liu Z.J., Markova S.S., Frank L.A., Lee J., Vysotski E.S., Wang B.C. Crystal structure of coelenterazine-binding protein from *Renilla muelleri* at 1.7 Å: Why it is not a calcium-regulated photoprotein // Photochem. Photobiol. Sci. 2008. V. 7, No. 4. P. 442-447.
24. Stepanyuk G.A., Xu H., Wu C.K., Markova S.V., Lee J., Vysotski E.S., Wang, B.C. Expression, purification and characterization of the secreted luciferase of the copepod *Metridia longa* from *Sf9* insect cells // Protein Expr. Purif. 2008. V. 61, No. 2. P. 142-148.
25. Tikhomirov A.A., Ushakova S.A., Velichko V.V., Zolotukhin I.G., Shklavttsova E.S., Lasseur Ch., Golovko T.K. Estimation of the stability of the photosynthetic unit in the bioregenerative life support system with plant wastes included in mass exchange //Acta Astronautica. 2008. V. 63. P. 1111-1118.
26. Tikhomirova N.A., Ushakova S.A., Tikhomirov A.A., Kalacheva G.S., Gros J.-B. Possibility of *Salicornia europaea* use for the human liquid wastes inclusion into BLSS intrasystem mass exchange // Acta Astronautica. 2008. V. 63. P. 1106-1110.
27. Titushin M.S., Markova S.V., Frank L.A., Malikova N.P., Stepanyuk G.A., Lee J., Vysotski E.S. Coelenterazine-binding protein of *Renilla muelleri*: cDNA cloning, overexpression, and characterization as a substrate of luciferase // Photochem. Photobiol. Sci. 2008. V. 7, No. 2. P. 189-196.
28. Ushakova S.A., Zolotukhin I.G., Tikhomirov A.A., Tikhomirova N.A., Kudenko Yu.A., Gribovskaya I.V., Balnokin Yu. and Gros J.-B. Some Methods for Human Liquid and Solid Waste Utilization in Bioregenerative Life-Support Systems // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2008. V. 151. P. 676-685.
29. Voinova O.N., Gladyshev M.I., Volova T.G. Comparative study of PHA degradation in natural reservoirs having various types of ecosystems // Macromol Symposia. 2008. V. 269. P. 34-37.
30. Volova T.G., Kalacheva G.S., Steinbuchel A. Biosinthesis multi-component Polyhydroxyalkanoates by the bacterium Wautersia eutropha // Macromol Symposia. 2008. V. 269. P. 1-7.

**4.4. Главы в монографиях зарубежных издательств**

1. Bartsev S.I., Mezhevikin V.V. Theoretical and computer modeling of evolution of autocatalytic systems in a flow reactor // In: Biosphere origin and evolution. (Editors: N. Dobretsov, N. Kolchanov, A. Rozanov, G. Zavarzin). Springer. 2008. P. 119-129.
2. Gubanov V.G., Degermendzhi A.G. Biotic Turnover in Superorganism Systems: Several Principles of Establishment and Sustenance (Theoretical Analysis, Debatable Issues) // In: Biosphere origin and evolution. (Editors: N. Dobretsov, N. Kolchanov, A. Rozanov, G. Zavarzin). Springer. 2008. P. 327-348.
3. Degermendzhi A.G. New directions in biophysical ecology // In: Global Climatology and Ecodynamics: Anthropogenic Changes to Planet Earth. (Editors: A.P. Cracknell, V.F. Krapivin, C.A. Varotsos). 2008. Springer. Chapter 14. P. 379-396.
4. Degermendzhi A.G., Bartsev S.I., Gubanov V.G., Erokhin D.V., Shevirnogov A.P. Forecast of biosphere dynamics using small-scale models // In: Global Climatology and Ecodynamics: Anthropogenic Changes to Planet Earth. (Editors: A.P. Cracknell, V.F. Krapivin, C.A. Varotsos). Springer. 2008. Chapter 10. Р. 241-300.
5. Girotti S., Maiolini E., Bolelli L., Ferri E., Pompei A., Matteuzzi D., Medvedeva S., FontiP. Bioremediation of contaminated soils by hydrocarbons degrading bacteria and decontamination control *//* In: Soil chemical pollution, risk assessment, remediation and security. (Editors: L. Simeonov and V. Sargsyan). Springer Science + Business Media B.V. 2008. P. 369-383.
6. Girotti S., Maiolini E., Bolelli L., Ghini S., Ferri E.,Barile N., Medvedeva S. Analytical techniques and bioindicators in environmental control: honeybees, mussels, bioluminescent bacteria. Rapid immunoassays for pesticide detection *//* In: Soil chemical pollution, risk assessment, remediation and security. (Editors: L. Simeonov and V. Sargsyan). Springer Science + Business Media B.V. 2008. P. 327-347.
7. Zadereev E.S. The role of within- torphic level chemical interactions in diapause induction: Basic and Applied Aspects *//* In: Diapause in Aquatic Invertebrates: Theory and Human Use. Alekseev, DeStasio, Gilbert (eds.). 2007. Springer, P. 197-206.

**4.5. Статьи и доклады в зарубежных сборниках**

1. Bolsunovsky A. The effect of radionuclide and heavy metal contamination of the Yenisei river on cytogenetics of aquatic plant Elodea // Proceedings of the International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity. Part 2. Bergen, Norway. 2008. P. 140-143.
2. Bondareva L., Bolsunovsky A. Bioavailability of 99Tc to a macrophyte of the Yenisei River // Proceedings of the International Conference on Radioecology and Environmental radioactivity. Part 1. Bergen, Norway. 2008. P. 144-147.
3. Dementyev D., Bolsunovsky A. Accumulation of artificial radionuclides by edible wild mushrooms and berries in the forests of the central part of the Krasnoyarskii Krai // Proceedings of The International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity. Part 1. Bergen, Norway. 2008. P. 185-188.
4. Tikhomirov A.A., Degermendzhi A.G., Ushakova S.A., Kudenko Yu.A., Tikhomirova N.A. and Motorin N. Researches in the Bios-3 Closed Controlled Experiment Facility of the Institute of Biophysics of the Siberian Branch of Russian Academy of Science // In: Proceedings of the International Symposium on Application of Experimental System to Modeling of 14C Transfer in the Environment, Rokkasho, Aomori, Japan. 2007. (Editors: Yasuhiro Tako, Takashi Tani, Ryuji Arai, Susumu Nozoe and Yuji Nakamura). Institute for Environmental Sciences. Japan. 2008. P. 155-162.
5. Zotina T.A., Bolsunovsky A.Ya, Kalachova G.S. Accumulation and distribution of 241Am in the biomass of freshwater plant *Elodea cnadensis* // Proceedings of the International Conference on Radioecology and Environmental radioactivity. Part 1. Bergen, Norway. 2008. P. 221-224.

**4.6. Статьи и доклады в отечественных сборниках**

1. Барцев С.И., Белоус И.А., Ланкин Ю.П., Межевикин В.В. Нейросетевой поиск в зашумленных последовательностях // X Всероссийская научно-техническая конференция "Нейроинформатика-2008". Научная сессия МИФИ-2008. В 2-х частях. Ч. 2.- М.: МИФИ. 2008. С. 140-148.
2. Бондарева Л.Г., Болсуновский А.Я., Трапезников А.И., Жижаев А.М. Содержание и физико-химические формы существования техногенных радионуклидов в воде реки Енисей в зоне влияния Горно-химического комбината // Материалы V международной конференции «Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде». Т. 1. Семипалатинск, Казахстан. 2008. С. 164-168.
3. Дементьев Д.В., Болсуновский А.Я. Техногенные радионуклиды в грибах и ягодных кустарниках лесных экосистем Красноярского края // Материалы V международной конференции “Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде”. Т. III. Семипалатинск, Казахстан. 2008. С. 181 – 186.
4. Захожий И.Г., Шихов В.Н. Воздействие повышенной температуры на фотосинтетический аппарат растений пшеницы, выращенных на минерализованных экзометаболитах // Актуальные проблемы биологии и экологии: Матер. докл. всерос. молод. науч. конф. – Сыктывкар, 2008. С. 91-93.
5. Зотина Т.А., Болсуновский А.Я., Суковатый А.Г. Распределение стабильных и радиоактивных изотопов металлов по компартментам биомассы макрофитов р.Енисей и оценка дозовой нагрузки // Материалы V международной конференции «Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде». Т. 2. Семипалатинск, Казахстан. 2008. С. 135-141.
6. Зотина Т.А., Кленус В.Г., Болсуновский А.Я., Гудков Д.И., Беляев В.В.. Оценка локализации 137Cs и 90Sr в биомассе макрофитов р. Енисей (Красноярский край, Россия) и оз. Глубокое (Чернобыльская зона отчуждения, Украина) // Материалы V международной конференции «Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде». Т. 2. Семипалатинск, Казахстан. 2008. С. 141-147.
7. Зотина Т.А. Роль погруженных макрофитов в накоплении техногенных радионуклидов в реке Енисей // Материалы V конференции молодых ученых СО РАН, посвященной М.А. Лаврентьеву. Новосибирск. 2007. С. 5-8.
8. Печуркин Н.С. Биосфера: коэволюция открытых и закрытых систем разных уровней иерархии // Проблемы эволюции открытых систем. Алматы. 2008. Т. 1. С. 103-110.
9. Письман Т.И. Роль эволюции в конкурентных отношениях между симбиозом Paramecium bursaria – зоохлорелла и другими беспозвоночными // Проблемы эволюции открытых систем. Алматы. 2008. Т. 1. С. 111-118.
10. Письман Т.И., Пугачева И.С. Математическая модель сезонной динамики агрофитоценозов с учетом наземных и спутниковых измерений // Моделирование неравновесных систем. Красноярск. 2008. С. 140-142.
11. Письман Т.И. Модель конкуренции природного биотического цикла (симбиоза Paramecium bursaria – зоохлорелла) и инфузории Paramecium caudatum с учетом трат на поддержание // Моделирование неравновесных систем. 2008. Красноярск. С. 136-139.
12. Ронжин Н.О., Харин К.А., Пузырь А.П., Бондарь В.С. Выделение и очистка люциферазы в объеме с помощью наноалмазов детонационного синтеза // Материалы научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых физиков НКСФ-XXXVII Красноярск: Изд-во СФУ. 2008. С. 113-117.
13. Сомова Л.А., Печуркин Н.С., Письман Т.И. Функциональная лабильность микроорганизмов в искусственных экосистемах // Проблемы эволюции открытых систем. Алматы. 2008. Т. 2. С. 319-324.
14. Сухоруков Ф.В., Мельгунов М.С., Болсуновский А.Я., Макарова И.В., Бондарева Л.Г. и др. Формы нахождения и запасы γ-излучающих радионуклидов, изотопов Pu, Sr-90 в аллювиальных почвах островов, донных осадках и воде р.Енисей от сброса ГХК до слияния его с р. Ангарой // Материалы V международной конференции «Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде». Т. 2. Семипалатинск, Казахстан. 2008. С. 394-402.
15. Ушакова С.А., Тихомиров A.A., ГоловкоT.K. Устойчивость фотосинтетического аппарата растений пшеницы к действию повышенных температур, как предполагаемого представителя фототрофного звена биорегенеративных систем жизнеобеспечения // Современная физиология растений: от молекул до экосистем: Матер. Докл. Междунар. конф. Часть 2. С. 404-406.
16. Тихомиров А.А. «Биос-3» - как возможная модель биорегенеративной системы СЖО на стационарной космической станции на Марсе // В кн.: Космонавтика и культура. Под. ред. Н.С. Кирдоды – М., Изд-во «Ителекон Экспо». 2008. С. 39-44.

4.7. **Импакт-фактор ИБФ СО РАН за 2008 г.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| журнал | Импакт | количество | сумма |
| Биоорганическая химия | 0 | 1 | 0 |
| Биофизика | 0,430 | 1 | 0,430 |
| Бюлл. эксперим. биологии и медицины | 0,249 | 2 | 0,498 |
| Доклады АН | 0 | 12 | 0 |
| Журнал общей биологии | 0,338 | 1 | 0,338 |
| Институт стоматологии | 0 | 1 | 0 |
| Исследование Земли из космоса | 0 | 1 | 0 |
| Микробиология | 0,597 | 1 | 0,597 |
| Перспективные материалы | 0 | 1 | 0 |
| Письма в ЖЭТФ | 1,378 | 1 | 1,378 |
| Ползуновский вестник | 0 | 1 | 0 |
| Проблемы управления | 0 | 1 | 0 |
| Радиационная биология. Радиоэкология | 0 | 1 | 0 |
| Радиохимия | 0 | 1 | 0 |
| Российские нанотехнологии | 0 | 1 | 0 |
| Технология живых систем | 0 | 1 | 0 |
| Acta Astronautica | 0.289 | 4 | 1,156 |
| Advances in Space Research | 0,774 | 5 | 3,78 |
| Analytical and Bioanalytical Chemistry | 2,867 | 1 | 2,867 |
| Aquatic Ecology | 0,925 | 1 | 0,925 |
| Applied Biochemistry and Biotechnology | 1,643 | 1 | 1,643 |
| Ecological modelling | 2,077 | 1 | 2,077 |
| Ecology and Safety | 0 | 1 | 0 |
| J. Appl. Phycol. | 0,788 | 1 | 0,788 |
| J. Photochem. Photobiol **B**: Biology | 1,919 | 1 | 1,919 |
| Journal of Radioanalytical and Nuclear chemistry | 0,499 | 1 | 0,499 |
| Journal of Siberian Federal University. Biology | 0 | 11 | 0 |
| Limnol. Oceanogr. | 3,277 | 1 | 3,277 |
| Macromol. Symposia | 0 | 5 | 0 |
| J. Mater Sci.: Mater Med. | 1,581 | 1 | 1,581 |
| Microbiological Research | 1,535 | 1 | 1,535 |
| Nanotechnology | 3,310 | 1 | 3,310 |
| Photochem. Photobiol. Sci. | 2,208 | 3 | 6,624 |
| Protein Express Purif. | 1,940 | 1 | 1,940 |
| Итого | | **69** | **35,581** |

Средний импакт-фактор на научного сотрудника – 0.55

Количество статей на научного сотрудника – 1.01

**Приложение 2**

**Форма 1**

**Ежегодные данные об Институте биофизики СО РАН на 01.12.2008 г.**

**Сведения о тематике научных исследований**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Научное учрежде-ние | Количество тем, по которым проводились исследования. Количество законченных тем (в скобках) в отчетном году  Финансирование в отчетном году (тыс. руб.) | | | | | | | | | | |
| Всего | Прези-дентские  програм-мы  Грант  Президента РФ:  **1.** МК-1167.2007.4  **2.** МД-4114.2008.4  **3.** МК- 577.2008.4  **4.** НШ- 1211.2008.4 | Госу-дарст-венные научно- техни-ческие прог-раммы  (ФЦП)  **1.** Феде-ральное агентство по науке и иннова-циям  №  02.512.12.  2006 | Региональ-ные программы  **1.** Краснояр-  ский краевой фонд науки:  13T19, 13T20  13T21, 13T36 13T38, 13Т60  13T61, 13T63  12TS074  12TS091  12TS092  12TS096  12TS132  18G143,18G154  18G156,18G158  18G198,18G142  **2.** ККФН- Енисей-2007:  07-04-96801  07-04-96803  07-04-96806  07-04-96813  07-04-96820  07-04-96825  07-05-96807  07-08-96800 | По грантам РФФИ:  06-04-48124, 06-05-64294  07-03-00112, 07-04-01248  07-04-01340, 07-05-00076  08-04-00286, 08-04-00291  08-04-00324, 08-04-00928  08-04-01232, 08-04-01790  08-05-00095, 08-05-00137  08-08-00427  07-04-96801 р\_енисей\_а  07-04-96803 р\_енисей\_а  07-04-96813 р\_енисей\_а  07-04-96820 р\_енисей\_а  07-04-96806 р\_енисей\_а  07-04-96825 р\_енисей\_а  07-05-96807 р\_енисей\_а  07-08-96800 р\_енисей\_а  06-04-90234 ННФ\_а  06-04-89502 ННС\_а  08-04-90307 Вьет\_а  08-04-05003 б  **Подд. по конкурсу “з”:**  07-05-08396, 07-05-08376  08-04-08045, 08-04-08048  08-04-08119, 08-04-08125  08-04-08126, 08-05-09249  08-05-09259, 08-05-08186  08-04-08227, 08-04-08273  08-04-08262, 08-04-09251  08-04-09367, 08-04-08461  08-04-08429, 08-05-08359  08-05-16032, 08-04-08379  08-05-09323, 08-05-09324 | По гран-  там РГНФ | По за-рубеж-ным грантам  **1.** INTAS  03-59-143  **2.**  RPo6Bo2-2  Тайвань | По меж-  дуна-род-ным про-ектам | По хоз-дого-ворам с рос-сий-скими заказ-чика-ми | По согла-шениям с зарубеж-ными партне-рами  **1.** Федераль-ральная Шпиц Лаборатория,  Швейцария  **2.** Фирма “Байер”, Германия  **3.** Фирма  “Cardiogenics Inc.”, Канада  **4.** LUX Inno-vate Ltd.,  Великобрита-ния  **5.** LUMINOS LLC, США | Программы РАН и  СО РАН:  **1.** Молек. и клеточная биология 10.10  **2.** Фунд. науки- медицине 12.11  **3.** Эволюция и происхождение биосферы 18.11  **4.** ИК СО РАН 18.2  **5.** Интеграцион-ные проекты:  14, 24, 30, 34, 38, 54, 114, 119, 5.16, 5.17  **6.** Виварии и кле-точные культуры  **7.** Поддержка экспедиций и стационаров  **8.** Совет научной молодежи |
|  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| ИБФ  СО РАН | 115(87)  23912,1 | 4(1)  986,0 | 1(0)  3800,0 | 27(27)  947,0 | 49(36)  8967,5 | - | 2(2)  402,0 | - | 9(7)  773,2 | 5(0)  863,2 | 18(14)  7173,2 |

Директор Института, чл.-корр. РАН А.Г. Дегерменджи

Дополнение к форме 1 Отчета

**Ежегодные данные об Институте биофизике СО РАН на 01.12.2008 года**

# Сведения о тематике научных исследований

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Научное  учреждение | Количество тем, по которым проводились исследования  Количество законченных тем (в скобках) в отчетном году  Финансирование в отчетном году (тыс. руб.) | | | | | | | | |
| Средства СО РАН, всего  (**сумма столбцов**  **3-8**) | «базовое» финанси-рование | Интегра-ционные проекты СО РАН  14, 24, 30, 34, 38, 54, 114, 119, 5.16, 5.17 | Моло-дежные гранты СО РАН  Совет  научной  молодежи | Конкурсы по поддержке экспедиций и стационаров СО РАН  + Виварии | Программы Президиума РАН (средства  СО РАН)  10.10  12.11  18.11  18.2 | Программы отделений РАН (ОМН  и др), ср-ва СО РАН | Программы Президиума РАН  (средства РАН через головные организации) | Программы отделений РАН (ОМН и др), средства РАН через головные организа-ции |
|  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Институт  биофизики  СО РАН | 75555,3 | 68382,1 | 10(10)  4220,0 | 1(1)  65,0 | 3(3)  1368,2 | 4(0)  1520,0 | **-** | - | **-** |

Директор Института, чл.- корр. РАН А.Г. Дегерменджи

Форма 2

# Численность сотрудников Института биофизики СО РАН на 01.12.2008 г.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Научное  учреждение | Общая числен-ность | В т.ч.  научных сотруд-ников | Из них: | | | | | | |
| членов РАН | | докторов наук | канди-датов наук | научных сотруд-ников без степени | молодых специа-листов | количе-ство аспи-рантов |
| академи-ков | членов-корреспон-дентов РАН |
| **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** |
| Институт  биофизики  СО РАН | 175 | 68 | 1 | 1 | 17 | 47 | 4 | 18 | 18 |

Директор Института,

чл.- корр. РАН А.Г. Дегерменджи

Форма 3

# Сведения о публикациях Института биофизики СО РАН на 1.12.2008 г.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Монографии  (наименование, авторы, издательство, год издания, объем  в печатных листах) | Число публикаций | | | Число охранных документов | |
| Статьи в рецензируемых журналах**\*** | | Доклады  в сборниках  международных конференций | Патенты | Зарегистри-рованные программы для ЭВМ и базы данных |
| отечественные **\*** | зарубежные**\*** |
| **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** |
| Катастрофы в природе и обществе: Математическое моделирование сложных систем. Хлебопрос Р.Г, Охонин В.А., Фет А.И. Новосибирск: Издательский дом «Сова». 2008. 18,0 уч.-изд. л. (360 с.) | 39 | 30 | 5 | - | - |

Примечание: **\*** - с приложением полного списка научных статей.

Ученый секретарь Института,

к.б.н. Е.С. Задереев

Форма 4

Взаимодействие академической и вузовской науки

Институт биофизики СО РАН

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Наличие** | **Количество** | **Название вуза** |
| факультета, для которого институт является базовым | 1 | Сибирский федеральный университет (СФУ) |
| филиала вуза в институте |  |  |
| учебно-научного центра по подготовке высококвалифицированных специалистов |  |  |
| совместных кафедр с вузами | 3 | СФУ |
| совместных лабораторий с вузами |  |  |
| совместной научной инфраструктуры: экспериментальных стендов, полигонов, информационно-коммуникационных сетей и т.д. | 1 | СФУ |
| других образовательных учреждений, созданных с участием научных учреждений СО РАН (указать вид учреждения) |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Перечень проектов, выполняемых совместно с вузами в рамках ФЦП | Вид (направление) конкурса | Вуз | Сумма финансирования (если институт головной по проекту) |
| 1. Фундаментальные основы конструирования полимерных микро- и наноносителей биологически активных соединений.  2. Моделирование процессов функционирования сопряженных ферментативных систем в клетке на примере ферментов светящихся бактерий. | Аналитическая ведомственная целевая программа «Развитие научного потенциала высшей школы (2009-2010 годы) | СФУ |  |

Сколько студентов 3-5 курсов и (отдельно) магистрантов обучаются на совместных кафедрах 160 (50)

Сколько студентов выполняют дипломные работы или магистерские диссертации непосредственно в научных учреждениях под руководством научных сотрудников институтов 30

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Сколько научных сотрудников участвуют в работе со студентами, магистрантами и аспирантами:  - преподают в вузах  - руководят дипломными проектами,  магистерскими диссертациями  - руководят аспирантами | Общее число | Доктора наук | Кандидаты наук |
| 23  25  5  14 | 11  8  3  7 | 12  17  2  7 |

# Директор Института биофизики СО РАН

чл.-корр. РАН А.Г. Дегерменджи

Ученый секретарь Института

К.б.н. Е.С. Задереев

# Приложение 3

Форма 1

**Сведения о деятельности коммерческих и других организаций,**

**в число учредителей которых входят институты или научные центры СО РАН**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №№  п/п | Название организации с указанием организационно-правовой формы,  дата учреждения | Учредители  (указать всех учредителей, включая физических лиц), процентная доля участия учредителей | Почтовый адрес организации,  ф.и.о. и телефон руководителя | Числен-ность (чел.)  штатная / внештатная | Продукция  (специализа-ция) | Взаимоотношения между организацией и институтом-учредителем (аренда производствен-ных площадей, аренда производственных мощ-ностей, привлечение к работе сотрудников института и др.) |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |

### Директор Института биофизики СО РАН, чл.-корр. РАН \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ А.Г. Дегерменджи

Ученый секретарь Института биофизики СО РАН, к.б.н. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Е.С. Задереев

Форма 2

**Сведения о коммерческих и других организациях, работающих на базе научно-технического задела институтов СО РАН**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №№  п/п | Название организации | Почтовый адрес организации,  ф.и.о. и телефон руководителя | Продукция (специализация) | Институт-разработчик с указанием названия разработки | Форма участия института (ли-цензионное соглашение, передача ноу-хау, совместное производ-ство и другие оформленные договором отношения) |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

### Директор Института биофизики СО РАН, чл.-корр. РАН \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ А.Г. Дегерменджи

Ученый секретарь Института биофизики СО РАН, к.б.н. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Е.С. Задереев

Приложение 4

Форма 1

Отчет Институт биофизики СО РАН об участии в реализации федеральных целевых, ведомственных и региональных программ в 2008 году

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № гш | Наименование программы, подпрограммы, проекта (дата, № утверждающего документа, срок действия) | Заказчик | Головной исполнитель | Объем работ, тыс. руб. | Перечень соисполнителей по проекту с указанием объема работ, тыс. руб. |
| **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** |
| 1. | Программа: Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы: Живые системы |  |  |  |  |
| 1.1. | Подпрограмма «Клеточные технологии» |  |  |  |  |
| 1.1.1. | Проект ГК №02.512.12.2006 от «23» июня 2008 г.  Срок действия: июнь 2008 г. – 30 ноября 2009 г | Федеральное агентство по науке и инновациям | Институт биофизики  СО РАН | 3800 | нет |
|  |  |  |  |  |  |

Директор Института биофизики СО РАН

член-корр. РАН \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ А.Г. Дегерменджи

Ученый секретарь

к.б.н. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Е.С. Задереев

.

Форма 2

Сведения  
об участии Института биофизики СО РАН в реализации федеральных

(наименование научного учреждения СО РАН)

целевых, ведомственных и региональных программ в 2008 году

1. Наименование программы: Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы: Живые системы
2. Заказчик программы: Федеральное агентство по науке и инновациям
3. Наименование подпрограммы: Клеточные технологии
4. Наименование проекта: Биолюминесцентные методы визуализации in vivo молекулярных процессов в клетках и целых организмах
5. Основные результаты законченных этапов работы:

Исходя из пространственных структур различных лиганд-зависимых конформационных состояний Са2+-регулирумых фотопротеинов спроектирован, а затем, с помощью олигонуклеотид-направленного мутагенеза, получен набор мутантов обелина и акворина с заменами аминокислот (F88, M25, I144, F72, V118, E41, D133, I132, F119, L160 – в обелине и N33, F156 – в акворине), формирующих целентеразин-связывающую полость фотопротеинов. Для всех полученных мутантов обелина и акворина исследованы их основные физико-химические свойства (чувствительность к ионам кальция в присутствии и в отсутствие физиологических концентраций магния, спектры биолюминесценции, стабильность, удельная биолюминесцентная активность). Показано, что одиночные замены аминокислотных остатков обелина M25 и I144 привели к сдвигу максимума излучения в длинноволновую область спектра, а замена остатка F88 сместила максимум биолюминесценции в коротковолновую часть спектра. Установлено, что мутанты обелина F72V, I144H, F88Y и акворина N33D, F156S обладают повышенной, а мутанты обелина C51A, V118F, F119W и L160D – пониженной чувствительностью к ионам кальция по сравнению с обелином и акворином дикого типа. Показано, что магний в физиологической концентрации снижает чувствительность к кальцию мутантов акворина N33D и F156S, но не влияет на чувствительность к кальцию мутантов обелина. Установлено, что среди полученных мутантов обелина наибольшей чувствительностью к кальцию обладает мутант I144H, излучающий в зеленой области спектра. Показано, что чувствительность к кальцию мутанта обелина F119W почти в 10 раз ниже, чем у обелина дикого типа. Методом олигонуклеотид-направленного мутагенеза получен двойной мутант обелина F88Y&F119W. Показано, что данный мутант обладает излучением в синей области спектра аналогично одиночному мутанту F88Y и пониженной чувствительностью к ионам кальция аналогично одиночному мутанту F119W.

Директор Института биофизики

член-корр. РАН А.Г. Дегерменджи

Ученый секретарь, к.б.н. Е.С. Задереев